

Aus der Medizinischen Tierklinik  
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

# **Stoffwechseluntersuchungen bei trächtigen, fohlenden sowie laktierenden Shetlandponys**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)  
durch die Veterinärmedizinische Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von  
**JANA KIRSTEN**  
aus Leipzig

Leipzig, 2015

Mit der Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Manfred Coenen

Betreuer: apl. Prof. Dr. Dipl. ECBHM Manfred Füll

1. Gutachter: apl. Prof. Dr. Dipl. ECBHM Manfred Füll  
Medizinische Tierklinik  
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

2. Gutachter: Prof. Dr. Dipl. ECAR Dipl. ECBHM Axel Wehrend  
Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere  
mit tierärztlicher Ambulanz  
Justus-Liebig-Universität Gießen

Tag der Verteidigung: 13.01.2015

Meiner Familie und meinem Vater in Memoriam

Teilergebnisse wurden vor der Promotion publiziert:

J Kirsten, GF Schusser, M Fürll. Risikofaktoren für Hyperlipidämie bei Shetlandponys während der Trächtigkeit und Laktation. Laborfachtagung 2014, Medizinische Tierklinik, Leipzig.

# Inhaltsverzeichnis

## Abkürzungen

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Das Shetlandpony.....</b>	<b>3</b>
2.1.1	Rassebeschreibung.....	3
2.1.2	Lipidstoffwechsel .....	4
2.1.3	Leberverfettungen.....	5
2.1.3.1	Hyperlipidämie der Shetlandponys .....	5
2.1.3.2	Mit der Hyperlipidämie vergesellschaftete Erkrankungen.....	8
2.1.3.3	Equines Metabolisches Syndrom/ Equines Cushing Syndrom .....	8
<b>2.2</b>	<b>Geburtsauslösende Hormone .....</b>	<b>10</b>
<b>2.3</b>	<b>Stoffwechsellparameter .....</b>	<b>11</b>
2.3.1	Lipidstoffwechsel .....	11
2.3.1.1	Triacylglycerole (TG) .....	11
2.3.1.2	Cholesterol .....	12
2.3.1.3	Freie Fettsäuren (FFS) .....	12
2.3.1.4	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat (BHB).....	13
2.3.2	Leberstoffwechsel.....	13
2.3.2.1	Gesamtbilirubin.....	13
2.3.2.2	Aspartat-Amino-Transferase (ASAT).....	14
2.3.2.3	Glutamat-Dehydrogenase (GLDH).....	15
2.3.2.4	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase (GGT).....	15
2.3.2.5	Glucose.....	16
2.3.2.6	Alkalische Phosphatase (AP) .....	17
2.3.3	Protein- und Muskelstoffwechsel .....	17
2.3.3.1	Totalprotein (TP).....	17
2.3.3.2	Albumin .....	18
2.3.3.3	Harnstoff .....	18
2.3.3.4	Creatinin.....	19
2.3.3.5	Creatinkinase (CK) .....	19
<b>2.4</b>	<b>Leukozyten.....</b>	<b>20</b>

<b>2.5</b>	<b>Endotoxine .....</b>	<b>21</b>
2.5.1	Definition der Endotoxine .....	21
2.5.2	Endotoxinwirkungen.....	22
2.5.3	Endotoxinämie.....	23
2.5.4	Endotoxinschock.....	23
2.5.5	Neutralisation und Inaktivierung der Endotoxine.....	24
2.5.6	Endotoxin-bedingte Erkrankungen beim Pferd .....	25
2.5.6.1	Hufrehe.....	26
2.5.6.2	Kolik .....	28
2.5.6.3	Typhlocolitis .....	29
2.5.6.4	Fohlen-Sepsis.....	30
2.5.6.5	COPD.....	31
2.5.6.6	Kreislauf und DIC.....	31
2.5.7	Endotoxinbestimmung.....	31
<b>2.6</b>	<b>Antioxidativer Status .....</b>	<b>32</b>
2.6.1	Freie Radikale – oxidativer Stress .....	32
2.6.2	Antioxidantien .....	35
2.6.3	Antioxidative Kapazität .....	38
2.6.4	Bestimmung des antioxidativen Status mittels TEAC.....	40
<b>3</b>	<b>TIERE, MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>41</b>
<b>3.1</b>	<b>Tiere .....</b>	<b>41</b>
<b>3.2</b>	<b>Probenentnahme und Aufbereitung.....</b>	<b>42</b>
<b>3.3</b>	<b>Untersuchung der Blutproben .....</b>	<b>43</b>
3.3.1	Stoffwechselfparameter.....	43
3.3.2	Leukozyten .....	43
3.3.3	Endotoxine.....	45
3.3.4	TEAC.....	46
<b>3.4</b>	<b>Statistische Auswertung .....</b>	<b>49</b>
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>51</b>
<b>4.1</b>	<b>Lipidstoffwechsel.....</b>	<b>51</b>
4.1.1	Triacylglycerole (TG).....	51
4.1.2	Cholesterol.....	53
4.1.3	Freie Fettsäuren (FFS) .....	54
4.1.4	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat (BHB).....	55

## Inhaltsverzeichnis

<b>4.2</b>	<b>Leberstoffwechsel.....</b>	<b>57</b>
4.2.1	Gesamtbilirubin .....	57
4.2.2	Aspartat-Amino-Transferase (ASAT) .....	58
4.2.3	Glutamat-Dehydrogenase (GLDH).....	60
4.2.4	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase (GGT) .....	61
4.2.5	Glucose .....	62
4.2.6	Alkalische Phosphatase (AP).....	64
<b>4.3</b>	<b>Protein- und Muskelstoffwechsel.....</b>	<b>65</b>
4.3.1	Totalprotein (TP) .....	65
4.3.2	Albumin .....	67
4.3.3	Harnstoff .....	68
4.3.4	Creatinin .....	70
4.3.5	Creatinkinase (CK) .....	71
<b>4.4</b>	<b>Leukozyten.....</b>	<b>73</b>
<b>4.5</b>	<b>Endotoxine .....</b>	<b>74</b>
<b>4.6</b>	<b>TEAC .....</b>	<b>75</b>
<b>5</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>76</b>
<b>5.1</b>	<b>Lipidstoffwechsel.....</b>	<b>77</b>
5.1.1	Triacylglycerole (TG).....	78
5.1.2	Cholesterol .....	80
5.1.3	Freie Fettsäuren (FFS) .....	81
5.1.4	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat (BHB).....	83
<b>5.2</b>	<b>Leberstoffwechsel.....</b>	<b>84</b>
5.2.1	Gesamtbilirubin .....	85
5.2.2	Aspartat-Amino-Transferase (ASAT) .....	86
5.2.3	Glutamat-Dehydrogenase (GLDH).....	87
5.2.4	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase (GGT) .....	87
5.2.5	Glucose .....	88
5.2.6	Alkalische Phosphatase (AP).....	89
<b>5.3</b>	<b>Protein- und Muskelstoffwechsel.....</b>	<b>90</b>
5.3.1	Totalprotein (TP) .....	91
5.3.2	Albumin .....	91
5.3.3	Harnstoff .....	92
5.3.4	Creatinin .....	93
5.3.5	Creatinkinase (CK) .....	93

## Inhaltsverzeichnis

5.4	Leukozyten.....	94
5.5	Endotoxine .....	95
5.6	TEAC .....	96
6	ZUSAMMENFASSUNG .....	98
7	SUMMARY .....	100
8	LITERATURVERZEICHNIS .....	102
9	ANHANG.....	124
9.1	Abbildungsverzeichnis.....	124
9.2	Tabellenverzeichnis.....	126
	DANKSAGUNG .....	127



## ABKÜRZUNGEN

ABTS	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonicacid) diammonium salt	DNA	Desoxyribonukleinsäure
ACL	antioxidative capacity of lipid-soluble components	E. coli	Escherichia coli
ACTH	adrenocorticotropes Hormon	ECS	Equines Cushing Syndrom
ACW	antioxidative capacity of water-soluble components	EDTA	ethylene diamine tetraacetic acid
ADP	Adenosin-Diphosphat	ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ALA-AK	Anti-Lipid-A-Antikörper	EMD	Equine Motor neuron disease
ALB	Albumin	EMS	Equines Metabolisches Syndrom
a. p.	ante partum	ET	Endotoxin
AP	Alkalische Phosphatase	et al.	et alii
APC	aktiviertes Protein C	EU/ml	Endotoxin-Units pro Milliliter
APO-B-48	Apolipoprotein B-48	FFS	Freie Fettsäuren
ASAT	Aspartat-Amino-Transferase	g	Erdbeschleunigung
AT	Antithrombin	g/dl	Gramm pro Deziliter
ATP	Adenosin-Triphosphat	g/l	Gramm pro Liter
BCS	Body Condition Scoring	G/l	Giga pro Liter
BILI	Gesamtbilirubin	GH	growth hormone
BHB	β-Hydroxy-Butyrat	GGT	γ-Glutaminsäure-Transaminase
BPI	Bakterizidie und Permeabilität steigerndes Protein	GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
CD-14	Cluster of Differentiation 14	GLUC	Glucose
CETP	Cholesterolester-Transferprotein	GLUT-4	Glucosetransporter Typ 4
CHOL	Cholesterol	GSH	Glutathionsulphydryl, reduzierte Form
CK	Creatinkinase	GSSG	Glutathiondisulfid, oxidierte Form
COPD	chronic obstructive pulmonary disease	GPX	Glutathion-Peroxidase
CREA	Creatinin	h	Stunde
CRP	C-reaktives Protein	HDL	High Density Lipoprotein
DGKC	Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie	HST	Harnstoff
DIC	disseminierte intravasale Coagulopathie	IE	Internationale Einheit
		IGF-1	Insulin growth factor 1
		IgG	Immunglobulin G
		IL	Interleukin
		i. m.	intramuskulär
		kcal	Kilocalorien
		LAL	Limulus-Amöbozyten-Lysat

## Abkürzungen

LDH	Laktat-Dehydrogenase	PSSM	Polysaccharid-Speicher-Myopathie
LDL	Low Density Lipoprotein	r	Korrelationskoeffizient nach SPEARMAN
LH	luteinisierendes Hormon	ROS	Reaktive Oxygen-Spezies
LP	Lipoproteine	S.	Seite
LPB	LPS-bindendes Protein	s	Standardabweichung
LPL	Lipoproteinlipase	s. c.	subkutan
LPS	Lipopolysaccharide	SDH	Sorbitdehydrogenase
LTH	laktotropes Hormon (Laktotropin/ Prolaktin)	SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
μl	Mikroliter	SOD	Superoxid-Dismutase
μmol/l	Mikromol pro Liter	sog.	so genannt
ml	Milliliter	spp.	Species
mM	Millimolar	STH	Somatotropes Hormon
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule	t <sub>1/2</sub>	Halbwertszeit
mmol/l	Millimol pro Liter	TAA	Total Antioxidant Activity
MR	multipler Regressionskoeffizient	TEAC	Trolox Equivalent Antioxidative Activity
n	Anzahl	TG	Triacylglycerole
nm	Nanometer	TNF-α	Tumornekrosefaktor α
nmol/l	Nanomol pro Liter	Tl	Thallium
NO	Stickstoffmonoxid	TP	Totalprotein
Nr.	Nummer	TRAP	total peroxy radicaltrapping capability of plasma
OCD	Osteochondrosis dissecans	Trolox	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl- chroman-2-carbonsäure
p	Irrtumswahrscheinlichkeit; Signifikanzniveau	TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
Pb	Blei	U/l	Units pro Liter
pCO <sub>2</sub>	Partialdruck des Kohlendioxids	UV	ultraviolett
PAF	plättchenaktivierender Faktor	VLDL	Very Low Density Lipoprotein
PBS	Phosphate buffered saline	Wo.	Woche
pg	Picogramm	$\bar{x}$	Mittelwert
pg/ml	Picogramm pro Milliliter		
p. c.	post conceptionem		
p. p.	post partum		

# 1 EINLEITUNG

Unter den Pferden neigen besonders Shetlandponys zur Hyperlipidämie (WENSING et al. 1975, RALSTON und BAILE 1983, JEFFCOTT und FIELD 1985, FÜRLI und SCHÄFER 1992b, WATSON et al. 1992, HINTZ 1994, MOGG und PALMER 1995, GEELEN et al. 2001, DUNKEL et al. 2007, WAITT und CEBRA 2009), bei denen diese Erkrankung eine schwere, zum Teil letal endende Lipidstoffwechselstörung darstellt, die durch Anreicherung von Lipiden im Blut und der fettigen Infiltration der Leber und anderen Organen, wie Herz und Nieren, gekennzeichnet ist. Sehr häufig sind davon adipöse, tragende oder laktierende Shetlandpony-Stuten betroffen, die während verschiedenster Stresssituationen vermindert Nahrung aufgenommen haben. Die Inzidenz dieses Syndroms liegt bei 2-3%, allerdings mit einer bis zu 70%igen Mortalität (SALLMANN et al. 2002).

Die Fettmobilisierung mit Hyperlipidämie ist keine selbständige Primärerkrankung, vielmehr handelt es sich um eine Begleiterscheinung verschiedener anderer Krankheiten und Stresssituationen (BREIDENBACH 1996, WRAGE 2002). Die betroffenen Tiere befinden sich in der Regel in einer energetischen Unterbilanz, in deren Folge der Energiebedarf durch Fettmobilisierung gedeckt wird. Es existieren viele Hinweise in der Literatur, dass besonders Shetlandponys in Stresssituationen, wie z. B. Trächtigkeit, Laktation, Infektionen, körperliche Arbeit, schnell und effizient Fettsäuren lipolytisch aus den Fettdepots freisetzen (WATSON et al. 1992; RIEBANDT 2005). Betroffen sind vor allem Ponys mit einem sehr guten, zumeist adipösen Ernährungszustand (JEFFCOTT und FIELD 1985, FÜRLI und SCHÄFER 1992b). Seit längerem werden als wichtiger pathogenetischer Faktor die endokrinologischen Veränderungen, analog dem metabolischen Syndrom des Menschen bei Obesitas, bei Ponys hinterfragt und eine ungenügende Insulinwirksamkeit postuliert (McCANN et al. 1987, GENTRY et al. 2002, BUFF et al. 2005, KRONFELD et al. 2006, TREIBER et al. 2006, BERG et al. 2007, DURHAM et al. 2008, WEYENBERG et al. 2008, DÜHLMEIER et al. 2010, GEORGE et al. 2011, KARIKOSKI et al. 2011, HOLDSTOCK et al. 2014, DUNKEL et al. 2014). Die Bedeutung der Verfettung wird u. a. dadurch unterstrichen, dass sich bei Ponys bei Normalisierung ihres Körpergewichtes auch die Konzentrationen bzw. Wirksamkeit von Insulin und Leptin normalisieren (BUFF et al. 2005). DÜHLMEIER et al. (2010) sehen in der ungenügenden insulinvermittelten Aktivierung von GLUT-4 einen entscheidenden Punkt für die Hyperlipidämieentstehung. Bei Pferden und insbesondere bei Ponys sind zahlreiche Untersuchungen über die Bedeutung der proinflammatorischen Zytokine für die Entstehung sowie die Therapie der Hufrehe durchgeführt worden (BUFF et al. 2005, KARIKOSKI et al. 2011).

Für die Entwicklung einer Insulinresistenz kommen verschiedene Faktoren in Frage. Zu diesen Faktoren werden auch Zytokine, z. B. TNF- $\alpha$ , und Prooxidantien gerechnet (HOUSTIS et al. 2005, GOLDSTEIN et al. 2006, BELKNAP et al. 2007, VICK et al. 2007, ADAMS et al. 2009, TREIBER et al. 2009).

## Einleitung

So beschreiben TREIBER et al. (2009) erhöhte Konzentrationen inflammatorischer Zytokine sowie von Parametern des antioxidativen Status (Glutathion, Glutathion-Peroxidase, Superoxid-Dismutase, Malondialdehyd, Apoptose, 3-Nitrotyrosin) bei für Hufrehe anfälligen Ponys.

Sowohl proinflammatorische Zytokine wie auch Belastungen des antioxidativen Systems sind in endotoxämischen Prozessen involviert. Untersuchungen bei Rindern und Schafen haben ergeben, dass eine gesteigerte Lipolyse sowie die Abnahme der Lipoproteine und zweiwertigen Kationen im Blut zu einer verminderten Neutralisationskapazität von Endotoxinen bei gleichzeitiger Abnahme der Endotoxin-Clearance der Leber führen (FRITSCH 1998, KRÜGER und RÖPKE 1998, KASTNER 2002, FLOCKE 2012). Über Leber, Euter, Lunge und Nieren werden die Endotoxine physiologisch an Galle, Milch, Exhalat und Harn abgegeben. Unter den Bedingungen der Hyperlipidämie werden wichtige Substanzen des Endotoxin-Metabolismus (z. B. das HDL, Chylomikronen, Albumin, Lysozym, Fibronektin, Anti-LPS-Antikörper, Bakterizidie- und Permeabilitätssteigerndes Protein in den Granulozyten, Makrophagen- und Granulozytenzahl) verringert (FRITSCH 1998, KRÜGER und RÖPKE 1998, KASTNER 2002, FLOCKE 2012).

Auch bei Pferden einschließlich Ponys wurden umfangreiche Studien hauptsächlich zur klinischen und zirkulatorischen Wirkung von Endotoxinen sowie zu Möglichkeiten der therapeutischen Beeinflussung durchgeführt (BURROWS 1981, BLANCHARD et al. 1985, DUNKLE et al. 1985, EWERT et al. 1985, MORRIS 1991, ALLEN et al. 1996, CALTABIOTA et al. 2010, HUFF et al. 2010). Potentielle Einflüsse von Trächtigkeit, Abfohlung sowie Laktation gelten als Risikofaktoren für Fettstoffwechselstörungen und die Hyperlipidämie bei Ponys. Studien über hormonelle sowie metabolische Veränderungen während der Trächtigkeit und während der Laktation liegen vor allem von Großpferden vor (WATSON et al. 1993a, HEIDLER et al. 2004, DEICHSEL et al. 2006, GEORGE et al. 2011). Die Milchmenge, Milchezusammensetzung sowie Milchaufnahme durch die Fohlen untersuchten bei Großpferden DOREAU et al. (1990, 1993), GIBBS et al. (1982), OFTEDAL et al. (1983) sowie PAGAN und HINTZ (1986).

Systematische Untersuchungen zum Stoffwechsel bei Ponys in gutem Ernährungszustand mit Berücksichtigung von Endotoxinen sowie Antioxidantien während der Trächtigkeit, des Abfohlens sowie während der Laktation können der Literatur nicht entnommen werden. Deshalb wurden Verlaufsuntersuchungen in diesen Perioden mit folgenden Zielen durchgeführt:

- Analyse des Energie-Fettstoffwechsels, der Leberfunktion sowie weiterer Stoffwechsellparameter und der Gesamt-Leukozytenzahl,
- Messung der Endotoxinkonzentration sowie des antioxidativen Summenparameters TEAC,
- Prüfung von potentiellen Wechselbeziehungen zwischen Endotoxin-, Energie- und Lipidstoffwechsel,
- Prüfung hinsichtlich Risikosituationen für eine Hyperlipidämie in den Untersuchungsperioden.

## **2 LITERATURÜBERSICHT**

### **2.1 Das Shetlandpony**

Für den Zugang zum Gegenstand sind einige Vorbemerkungen zum Rassebild des Shetlandponys, zum Lipidstoffwechsel allgemein sowie zum rassetypischen Krankheitsbild der Hyperlipidämie bei diesen Ponys nötig. Die Auswahl der Rasse des Shetlandponys für diese Arbeit basiert auf der Grundlage, dass diese Rasse sehr ursprünglich und kaum züchterisch beeinflusst worden ist. Dadurch sind die einzelnen Individuen dieser Rasse relativ einheitlich im Exterieur und Interieur. Im Unterschied dazu stehen die Sportpferderassen, welche über Jahrhunderte auf Leistung selektiert wurden und bei denen Kriterien, wie Langlebigkeit, Fruchtbarkeit, Futterverwertung und Robustheit, keine Rolle spielten und weiterhin spielen.

#### **2.1.1 Rassebeschreibung**

Die kleinsten britischen Ponys sind auf den Shetland-Inseln beheimatet. Geprägt sind diese Inseln von einem rauen Klima und karger Vegetation. Diese, sowie die mineralstoffreichen Algen, welche sie im flachen Meer weideten, waren früher das einzige Futter der Shetlandponys. Diese harten Bedingungen haben den Charakter und die kleine Statur der Rasse geprägt. Shetlandponys sind von Natur aus widerstandsfähig, anspruchslos und ausdauernd.

Die Shetlandponys wurden um 1900 in Deutschland durch den Tierpark Hagenbeck eingeführt (HERMANN 2007). Erste Hengste und Stuten wurden 1947 in Thüringen registriert. Ein Hengst- und Stutbuch wurde offiziell erst 1953 eröffnet (WIESENHÜTTER 2008). In Sachsen sind derzeit etwa 355 Stuten und 55 Hengste in der Zucht aktiv. Das Zuchtbuch der Shetlandponys ist geschlossen, die Zuchtmethode ist die Reinzucht. Der PFERDEZUCHTVERBAND SACHSEN-THÜRINGEN e. V. (2014) legt in seiner Zuchtverbandsordnung das Zuchtziel für das Shetlandpony im Originaltyp analog der Vorgaben der SHETLAND PONY STUD-BOOK SOCIETY (2014) hinsichtlich Größe, Farben, Gebäude und Bewegungsablauf fest. Die Ponys, die für die Eintragung vorgesehen sind, dürfen dreijährig nicht über 105 cm und vierjährig nicht über 107 cm Widerristhöhe haben. Es sind alle Farben, außer Tigerscheckung, möglich.

Die Ponys sollten einen gut getragenen und proportionierten Kopf mit intelligenten, dunklen und freundlichen Augen, große Nüstern sowie kleine, aufgestellte, nicht zu eng stehende Ohren haben. Die Maulspalte muss genügend lang, Zähne und Kiefer müssen korrekt sein. Die Ponys besitzen einen kräftigen, nicht zu tief angesetzten Hals mit einer dichten Mähne. Der Körper steht im Rechteckformat mit einer schräg platzierten Schulter, breiter Brust, tiefgeripptem Mittelstück, nicht zu kurzer Kruppe und gut bemuskelter Hinterhand. Das kräftige Fundament zeichnet sich durch ein kurzes, korrektes und kräftiges Röhrlbein sowie runde, harte Hufe aus. Der Bewegungsablauf ist korrekt, raumgreifend, elastisch und leichtfüßig.

Das Shetlandpony eignet sich als kleines Reit- und Fahrpony und aufgrund seines gutartigen Temperaments besonders als Anfangspony für kleinere Kinder. Es ist klug, genügsam, langlebig, fruchtbar und robust.

### 2.1.2 *Lipidstoffwechsel*

Der Transport der Lipide aus den Enterozyten findet bei Säugetieren über die Bindung in Chylomikronen und in VLDL statt. Unter dem Einfluss der LPL werden aus den Chylomikronen im Bereich der Kapillaren Triacylglycerole in Diacyl- und Monoacylglyceride, in Glycerol sowie in Fettsäuren zerlegt (KOOLMAN und RÖHM 2003). Die Leber setzt Lipide in Teilchenform als VLDL frei, die etwa drei Stunden zirkulieren. Wenn die VLDL ihre leichtesten Elemente an Zellen abgeben, werden sie zu LDL, die zur Leber zurückkehren. Die im Blutplasma zirkulierenden HDL erleichtern die Lipidaufnahme, indem sie die Apoproteinmoleküle an die VLDL und Chylomikronen überführen (DINKEL 2002).

Auch bei Equiden wurden die Lipoproteine VLDL, LDL und HDL analysiert (Tabelle 1). Die Zusammensetzung der Apolipoproteine der Equiden ähnelt zwar grundsätzlich der des Menschen. Bei fastenden Pferden konnte jedoch aus den VLDL noch ein APO-B-48 isoliert werden (WATSON et al. 1991), dessen Zusammensetzung, im Gegensatz zu der des Menschen, auf seine hepatische Herkunft hindeutet (WATSON et al. 1992). Als weitere Besonderheit des Lipidstoffwechsels der Equiden ist das Fehlen des Cholesterolester-Transferproteins CETP zu nennen (WATSON et al. 1993a). Dadurch erscheinen die HDL des Pferdes besonders reich an Cholesterol (BREIDENBACH 1996).

Die VLDL-Konzentration im Blutplasma der Equiden (Tabelle 1) ist selbst nach fettreicher Fütterung niedrig (GRUNWALD 1991). In Hungerphasen zeigen Pferde und Ponys jedoch gegenüber anderen Säugetierspezies einen extrem starken Anstieg der VLDL-assoziierten TG im Blutplasma (WATSON et al. 1991). Während einer negativen Energiebilanz mobilisieren Ponys relativ mehr FFS aus dem Depotgewebe als Pferde (SCHMIDT 1994). Im Gegensatz zum Menschen war nach Ernährung der Ponys mit und ohne Fettzulage keine Zunahme der TG im Blutplasma festzustellen (WATSON 1991).

Die Speicherung von TG benötigt Insulin, obwohl die LPL den Fettsäuren den Eintritt in die Fettzellen auch unabhängig von Hormonen erlaubt. Ein Abfall des Insulinspiegels schränkt die insulinabhängigen Stoffwechselwege ein und hebt die Hemmungen auf, die das Insulin auf katabole Stoffwechselwege im Kohlenhydrat- und Lipidabbau bewirkt (DÜHLMEIER 1998).

Im Vergleich zu Großpferden und anderen Säugetieren weisen Shetlandponys eine auffallend herabgesetzte Sensitivität gegenüber Insulin auf (McCANN et al. 1987, KASKE et al. 2001, GENTRY et al. 2002, BUFF et al. 2005, KRONFELD et al. 2006, TREIBER et al. 2006, BERG et al. 2007, DURHAM et al. 2008, WEYENBERG et al. 2008, DÜHLMEIER et al. 2010, GEORGE et al. 2011, KARIKOSKI et al. 2011, HOLDSTOCK et al. 2014, DUNKEL et al. 2014).

**Tabelle 1:** Plasmalipid- und Lipoproteincholesterol-Konzentrationen im Serum von Pferden und Ponys (WATSON et al. 1993b)

	<b>Pferd</b> (n=8)	<b>Pony</b> (n=18)	<b>Pony</b> trächtig (n=6)	<b>Pony</b> früh laktierend (n=6)	<b>Pony</b> hyperlipämisch (n=18)
<b>TG (mmol/l)</b>	0,28 ± 0,08	0,48 ± 0,17	1,36 ± 0,49	0,41 ± 0,27	25,43 ± 18,09
<b>VLDL (mmol/l)</b>	0,16 ± 0,09	0,29 ± 0,14	0,55 ± 0,11	0,23 ± 0,09	5,55 ± 3,45
<b>LDL (mmol/l)</b>	0,61 ± 0,21	0,52 ± 0,22	0,63 ± 0,12	0,77 ± 0,70	0,60 ± 0,20
<b>HDL (mmol/l)</b>	1,33 ± 0,19	1,32 ± 0,29	1,73 ± 0,22	1,75 ± 0,27	1,36 ± 0,50
<b>FFS (mmol/l)</b>	ohne Angaben	0,39 ± 0,16	0,43 ± 0,20	0,98 ± 0,48	1,67 ± 0,80

Das Glukagon, ein kataboles Hormon, fördert die Glykogenolyse in der Leber und reguliert mit Insulin die Glucosehomöostase. Dabei ist das Somatostatin ein wirksamer Hemmer der Insulin- und der Glukagonsekretion (SINGH 2008).

### 2.1.3 Leberverfettungen

Es sind alimentäre, metabolische, toxische und hypoxische Hauptformen der Leberverfettung zu unterscheiden (ONETA und DUFOUR 2003). Das therapeutisch schwierig kontrollierbare Problem der übersteigerten Lipolyse zieht auch bei Pferden oft Folgeerkrankungen, wie Hyperlipidämie, Lipidosis und Steatosis hepatis nach sich (RIEBANDT 2005).

#### 2.1.3.1 Hyperlipidämie der Shetlandponys

Die Hyperlipidämie der Shetlandponys ist eine schwere, oft letal endende Störung des Lipidstoffwechsels mit hochgradigen Allgemeinstörungen, die durch den Anstieg der Lipide im Blut und der fettigen Leberinfiltration gekennzeichnet ist (WENSING et al. 1975, JEFFCOTT und FIELD 1985, FÜRLI und SCHÄFER 1992b, WATSON et al. 1992, RIEBANDT 2005, WAITT und CEBRA 2009).

**Vorkommen:** Obwohl das Risiko für Ponys am größten ist, an einer Hyperlipidämie zu erkranken, sind auch andere Equiden, wie z. B. Esel und Miniaturponys, gefährdet, wenn sie sich in einer Situation mit einer negativen Energiebilanz befinden (McKENZIE 2011). Das Alter der Tiere spielt bei der Pathogenese keine Rolle (FÜRLI und SCHÄFER 1992b, WAITT und CEBRA 2009). An der Hyperlipidämie erkranken vorwiegend Ponys, die aus unterschiedlichen Gründen an einer Anorexie leiden, z. B. aufgrund von Schmerzen, Stress, Kolik, Endoparasiten, Schweregeburt und Puerperalstörung, Rehe sowie Infektionen der oberen Atemwege (HUGHES et al. 2002).

Betroffen sind vor allem adipöse, gravide oder laktierende ältere Shetlandpony-Stuten (FÜRLI und SCHÄFER 1992b) (Tabelle 2), die aufgrund verschiedenster Stresssituationen kurzfristig vermindert Nahrung aufgenommen haben oder unter akutem Nahrungsentzug stehen.

Anscheinend wird bei Gravidität und Partus als Folge fehlender oraler Kalorienzufuhr mehr Fett mobilisiert, als verwertet werden kann (WATSON et al. 1993b, DUNKEL et al. 2014). Untersuchungen von SCHMIDT (1994) ergaben nach definierten Hungerperioden bei Ponys signifikant höhere Konzentrationen der FFS im Blutplasma gegenüber Pferden. In Untersuchungen von MOGG und PALMER (1995) litten die an Hyperlipidämie erkrankten Miniaturponys in den meisten Fällen primär an einer Enterocolitis.

**Tabelle 2:** Beziehungen zwischen Ernährungszustand sowie ausgewählten klinisch-chemischen Parametern bei an Hyperlipidämie erkrankten Ponys ( $n$  = Anzahl) (FÜRLI und SCHÄFER 1992a)

Ernährungs- zustand (% Patienten)	Glucose (g/l) $\bar{x} \pm s$	TG (mmol/l) $\bar{x} \pm s$	FFS (mmol/l) $\bar{x} \pm s$	Insulin (nmol/l) $\bar{x} \pm s$	Cortisol (nmol/l) $\bar{x} \pm s$
schlecht (4%)	<b>4,2</b> $\pm$ 3,1 (3)		0,56 $\pm$ 0,75 (3)	<b>0,10</b> (1)	
mäßig (6%)	13,7 (1)		0,71 (1)	<b>0,24</b> (1)	153 (1)
gut (50%)	<b>6,3</b> $\pm$ 4,2 (21)	4,7 $\pm$ 4,1 (18)	0,65 $\pm$ 0,55 (9)	<b>0,34</b> $\pm$ 0,22 (12)	72,3 $\pm$ 24,8 (9)
sehr gut (17%)	<b>7,3</b> $\pm$ 3,7 (8)	7,7 $\pm$ 0,9 (3)	0,66 $\pm$ 0,34 (3)	<b>0,43</b> $\pm$ 0,14 (4)	74,9 $\pm$ 18,9 (3)
adipös (23%)	<b>8,0</b> $\pm$ 6,0 (8)	3,2 $\pm$ 4,2 (3)	0,44 $\pm$ 0,17 (5)	<b>0,49</b> $\pm$ 0,01 (2)	105,0 $\pm$ 21,2 (2)

**Pathogenese:** Als primäre Ursache für die Hyperlipidämie ist die Fettmobilisation und damit die Anflutung von FFS im Blutplasma zu betrachten, wenn hoher Energiebedarf bzw. ungenügende oder reduzierte Energieaufnahme vor allem nach dauerhafter Überfütterung mit großen Fettdepots zu einer negativen Energiebilanz führen (WATSON et al. 1992, WRAGE 2002).

Zu dieser überschießenden Fettmobilisation neigen Ponys und Esel deutlich eher als Großpferde (WENSING et al. 1975, BREIDENBACH 1996, KRONFELD et al. 2006, DUNKEL et al. 2014). Offensichtlich sind Ponys weniger insulinresistent als große Pferde, so dass TG schneller mobilisiert werden und die Tiere bei negativer Energiebilanz auch schneller hyperlipämisch werden können (HACKER 2004, DÜHLMEIER et al. 2010). Auch WATSON und LOVE (1994) sehen die besondere Neigung der Ponys zu dieser Erkrankung in einer Insulinresistenz, die bei Großpferden nicht auftritt, sowie in der nicht erfolgenden Hemmung der Lipolyse durch Adenosin beim Pony. Diese Insulinresistenz der Shetlandponys kann aufgrund einer kleineren Anzahl von Insulinrezeptoren oder einer geringeren Affinität der Rezeptoren für Insulin verursacht sein (ELMAHDI 1998). TSCHUDI (1984) sieht als eine Ursache die höheren Glukagon-, Kortisol- und Katecholamin-Werte im Blutplasma, die stressbedingt auftreten können. Über eine Aktivierung der  $\beta$ -adrenergen Rezeptoren stimulieren die Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin die Lipolyse, die bei dem equinen Hyperlipidämie-Syndrom in gesteigertem Maße abläuft.



Isolierte Pony-Adipozyten zeigen bei einer Inkubation mit Noradrenalin im Gegensatz zu Großpferd-Adipozyten eine erhöhte Lipolyserate durch eine gesteigerte Aktivität der triglyzeridsplattenden Hormonsensitiven-Lipase (BREIDENBACH 1996). Dieses Enzym wird über ein Second-Messenger-System von den  $\beta$ -adrenergen Rezeptoren ( $\beta_{1+2+3}$ ) reguliert. DÜHLMIEIER et al. (2010) sehen in der ungenügenden insulinvermittelten Aktivierung von GLUT-4 einen entscheidenden Punkt für die Hyperlipidämieentstehung.

In jüngerer Zeit wird die Bedeutung der proinflammatorischer Zytokine sowie von Prooxidantien für die gehemmte Insulinwirkung und für die Entstehung der Hufrehe betont (BUFF et al. 2005, GOLDSTEIN et al. 2006, BELKNAP et al. 2007, TREIBER et al. 2009, KARIKOSKI et al. 2011).

ADAMS et al. (2009) vermuten in der altersbedingten Fettleibigkeit den Ausgangspunkt für eine Fehlregulation der Zytokinproduktion, VICK et al. (2007) in der Obesitas schlechthin. Die Fettmobilisation induziert eine sich rasch entwickelnde Hypertriglyzeridämie und Hypercholesterolemie, welche zur massiven Fettinfiltration von Leber, Herz und Nieren führen. Diese Hyperlipidämie verursacht eine gesteigerte VLDL-Sekretion der Leber. Die durch verstärkte Lipolyse ausgelöste erhöhte Lipoproteinsynthese in der Leber wird begleitet von einer Lipidakkumulation. Infolge der in Energiemangel-Situationen stets verminderten Insulinsekretion wird die Aktivität der Lipoproteinlipasen gehemmt. Nicht verstoffwechselbare Lipoproteine häufen sich dadurch an, die TG-Konzentration des Blutplasmas ist erhöht (WATSON et al. 1990). Ebenso steigt der Leberfettgehalt, der Blutzucker dagegen ist erniedrigt (ELMAHDI 1998).

**Klinik:** Ein pathognomonisches Symptom besteht nicht, das klinische Bild ist variabel. Neben den Symptomen der Grundkrankheit werden Inappetenz, Kreislauf- und Bewegungsstörungen, schwere Steatose, Resistenzminderung, Somnolenz, Muskeltremor, Lahmheit, Abmagerung, Kolik und geringgradiger Ikterus beobachtet, daneben können subkutane Ödeme und gelegentlich eine disseminierte intravasale Gerinnung auftreten. Erstes Anzeichen der Erkrankung ist die Einschränkung der Futteraufnahme bis zur völligen Inappetenz bei normaler Wasseraufnahme, ferner Schluckbeschwerden, Apathie, Temperaturanstieg auf 38,5 bis 40,4°C, Erhöhung der Herzfrequenz auf 60-80 pro Minute, verminderter Kotabsatz oder stinkende, wässrige Diarrhoe und Foetor ex ore (JEFFCOTT und FIELD 1985, FÜRLL und SCHÄFER 1992b, WATSON und LOVE 1994, DUNKEL et al. 2014).

Das Blut zeigt durch die starke Erhöhung der Lipidfraktionen eine typische Aufrahmung und nimmt so eine milchige Trübung an. Die Leber ist hochgradig verfettet und neigt zu Spontanrupturen (RIEBANDT 2005).

**Diagnose:** Die Diagnose lässt sich anhand der bläulich-milchigen Verfärbung von Blutplasma, Serum bzw. Blut oder durch die Bestimmung der TG sichern. Alle lipoiden Komponenten im Blut (VLDL, TG, FFS, Cholesterol) sind stark erhöht (WENSING et al. 1975, NAYLOR 1982a, FÜRLL und SCHÄFER 1992b). Auch die Aktivitäten der LDH, GGT, AP und der SDH sind erhöht (WATSON und LOVE 1994). Die Synthese der Gerinnungsfaktoren ist erniedrigt (FÜRLL et al. 1992a). Eine anfängliche Hypoglykämie kann in eine Hyperglykämie umschlagen (NAYLOR 1982b).

**Prognose:** Der Verlauf der Erkrankung hängt vom Ausmaß der Hyperlipidämie und von der auslösenden Primärkrankheit ab (DUNKEL et al. 2014). Trotz Intensivbehandlung ist die Prognose fraglich, etwa zu 60% endet die Erkrankung tödlich (FÜRLL et al. 1992b). Untersuchungen von MOGG und PALMER (1995) zufolge überlebten 61% der an Hyperlipidämie erkrankten amerikanischen Miniaturponys, jedoch alle mit einer TG-Konzentration >13,7 mmol/l verendeten oder mussten euthanasiert werden.

**Therapie:** Die Behandlung erfolgt mit parenteraler oder enteraler Glucose- bzw. Galactose-Applikation zur Beseitigung der negativen Energiebilanz sowie zur Stimulation der endogenen Insulinausschüttung, der Injektion exogenen Insulins zur Hemmung der Lipolyse, der Beseitigung einer metabolischen Azidose mittels Natriumhydrogencarbonat, der intravenösen Verabreichung von Heparin zur Aktivierung der LPL und damit zur Erhöhung der Triglycerid-Clearance (FÜRLL et al. 1992b). Auch WRAGE (2002) empfiehlt die Therapie mit Insulin und Heparin. Letzteres dient der Aktivierung der endothelialen LPL. Glucocorticoide und Analgetika (z. B. Metamizol) sind kontraindiziert, da sie die Erkrankung verschlimmern können (FÜRLL und SCHÄFER 1992b). Als Prophylaxe ist neben einer bedarfsgerechten Ernährung eine ausreichende Bewegung unerlässlich (FÜRLL und FIEDLER 1992).

### 2.1.3.2 Mit der Hyperlipidämie vergesellschaftete Erkrankungen

Die Hyperlipidämie kann bei Shetlandponys eine **Hufrehe** (Punkt 2.5.6.1) zur Folge haben.

Bei der Stute lösen sich die Fetalmembranen innerhalb von 30 Minuten bis zu drei Stunden. Eine **Retentio secundinarum** tritt etwa zu 4% bei Equiden auf. Als Ursache kommen Infektionen, Aborte, verlängerte Graviditätsdauer, Verletzungen der Genitale, Schweregeburten oder geburtshilfliche Eingriffe sowie ein höheres Alter der Mutterstuten in Frage. Nachgeburtsretentionen können zu Puerperalinfektionen, allgemeiner Sepsis und Geburtsrehe führen (JACKSON 2007).

### 2.1.3.3 Equines Metabolisches Syndrom/ Equines Cushing Syndrom

Das EMS sowie auch das ECS sind multifaktorielle Erkrankungen, für die eine Prädisposition bei Ponyrassen vorzuliegen scheint. Klinisch manifest werden hauptsächlich die sekundären Erscheinungen der Krankheiten. Die Insulinresistenz tritt bei verschiedenen Erkrankungen der Pferde, wie EMS, ECS, Diabetes mellitus, Hyperlipidämie, Hufrehe, Endotoxämie, Polysaccharid-Speicher-Myopathie (PSSM), Equine Motor neuron disease (EMD) und auch Osteochondrosis dissecans (OCD) auf (FIRSHMAN und VALBERG 2007).

Die Dysregulation des Insulins ist ein grundlegender Faktor beim **EMS** (FRANK und TADROS 2014). Bei dem EMS handelt es sich um einen Symptomenkomplex, gekennzeichnet mit einer metabolischen Entgleisung einschließlich einer Hyperinsulinämie mit der Folge von Insulinresistenz, Adipositas, Hufrehe, Hypertension und Dyslipidämie (FRANK 2011).

Es manifestiert sich bei genetisch prädisponierten Individuen und wird durch unzureichende Bewegung bei übermäßiger Energiezufuhr begünstigt (WINKELSETT und VERVUERT 2008). Im Unterschied zu der Hyperlipidämie wird das EMS nicht durch eine negative Energiebilanz ausgelöst, sondern hier steht primär die Insulinresistenz aufgrund der Adipositas im Vordergrund. Wird das Körpergewicht dieser adipösen Ponys durch Kalorienreduktion verringert, sinkt der Insulinspiegel signifikant, verbunden mit einem Anstieg von TG und Harnstoff sowie einem Abfall der Aktivitäten von LDH und CK (VAN WEYENBERG et al. 2008).

Das nutritive Management eines an EMS erkrankten Pferdes beinhaltet vor allem die Energierestriktion, wodurch sich Hufreheschübe und auch die Insulinresistenz vermindern lassen (KIENZLE und FRITZ 2013).

Das **ECS** ist auf Neoplasien der Pars intermedia der Hypophyse zurückzuführen (HEINRICHS et al. 1990). Durch dieses Adenom fällt die hemmende Wirkung des Dopamins auf die Hypophyse weg, wodurch es zu einer bis zu 600fach erhöhten ACTH-Sekretion kommt. Dies hat eine Steigerung der Cortisolproduktion der Nebennierenrinde zur Folge. Zusätzlich fehlen die Glucocorticoid-Rezeptoren auf den melanotropen Zellen, was die negative Rückkopplung verhindert und somit zum Verlust des diurnalen Rhythmus der Cortisol-Sekretion führt (CAPEN 2002). Betroffene Pferde zeigen Hirsutismus, Hyperhidriosis, Lethargie, Muskeldystrophie, Polydipsie/ -urie, insuffizientes Immunsystem und Hufrehe (DYBDAL 1997). Cortisol und Insulin haben eine entgegengesetzte Wirkung auf den Glucosestoffwechsel. Die beim ECS erhöhten Cortisolwerte können Hyperinsulinämie und Insulinresistenz hervorrufen (BAILEY und ELLIOTT 2007).

Sowohl beim EMS als auch beim ECS spielt das Insulin eine entscheidende Rolle. Adipositas geht fast immer mit einer Insulinresistenz einher (FITZGERALD und McMANUS 2000, VICK et al. 2007). Durch eine frühzeitige Laboruntersuchung kann eine eindeutige Diagnose gestellt und dadurch die möglichen Komplikationen vermindert werden (AHLERS 2010). Die Autorin ermittelte zu diesem Zweck Referenzwerte bei Ponyrassen für Insulin, IGF-1 und ACTH.

## 2.2 Geburtsauslösende Hormone

Die geburtsauslösenden Mechanismen unterscheiden sich beim Pferd von den anderen Spezies. Die Trächtigkeit wird nicht von Progesteron, sondern durch  $5\alpha$ -Pregnane und Pregnenolon erhalten, deren Vorläufer aus dem Fetus stammen. Es ist noch unbekannt, was den Wechsel von der fetalen Pregnenolonsynthese zur Cortisolausschüttung auslöst und wie das Cortisol die Plazentaschranke durchquert (NAGEL et al. 2012). Der Anstieg der maternalen Cortisolsynthese beginnt ca. 7 Tage a. p. und ist beim Partus ca. 7 bis 10fach erhöht (OUSEY und FOWDEN 2012).

Die Gestagene werden in der Plazenta aus dem von der fetalen Nebenniere stammenden Pregnenolon gebildet (HOFFMANN et al. 2009). In den letzten Wochen der Trächtigkeit steigen die Gestagenkonzentrationen massiv an (OUSEY 2004a) und sinken dann signifikant (NAGEL et al. 2012). Die Geburt wird durch die Abnahme der Gestagenkonzentration im Plasma der Stute eingeleitet, wenn das Pregnenolon in der fetalen Nebennierenrinde zu Cortisol verstoffwechselt wird.

Maximalwerte der Östrogene werden etwa in der Mitte der Gravidität erreicht, zum Geburtszeitpunkt hin erfolgt eine allmähliche Abnahme, die in einem drastischen Absinken auf Basalwerte in den letzten beiden Tagen vor der Geburt mündet (HOFFMANN et al. 2009).

OUSEY (2004b) findet eindeutige Beweise, dass der Prozess der fetalen Reifung durch die fetale Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse initiiert wird. Die so entwickelte hormonelle Kaskade gipfelt mit der Geburt am Termin.

Die Prostaglandine spielen perinatal eine wesentliche Rolle. Während der längsten Zeit der Trächtigkeit ist ihre Konzentration niedrig durch die regulatorische Wirkung der Gestagene. Die Stimulierung der Prostaglandine erfolgt zum Ende der Trächtigkeit durch die Hochregulation der fetalen Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse, was mit Veränderungen im Verhältnis von Gestagenen und Östrogenen verbunden ist (OUSEY und FOWDEN 2012). Die Geburt ist beim Pferd mit einem starken Anstieg der Prostaglandin- und der Oxytocinkonzentrationen verbunden, wodurch die Uteruskontraktionen und das Austreiben des Fohlens ausgelöst werden (VIVRETTE 1994).

Stoffwechselwirksame Hormone unterscheiden sich zwischen trächtigen und nichtträchtigen Stuten sowie a. p. und p. p. Nach HEIDLER et al. (2003) ist die STH-(GH)-Konzentration bei säugenden Stuten bis 12 Wochen p. p. gegenüber güsten signifikant erhöht. Die IGF-1-Konzentration bewegt sich bis 8 Wochen p. p. auf dem Niveau von güsten Stuten, fällt dann aber signifikant ab. Die Leptin-Konzentration ist bis 10 Wochen p. p. bei laktierenden Stuten signifikant niedriger. Die LTH- sowie LH-Konzentrationen sind bei laktierenden Stuten 6 bis 12 Wochen p. p. signifikant gesteigert mit besonderem mit Peak beim Partus.

Die Glucose-Konzentrationen bewegen sich dementsprechend zwei bis 12 Wochen p. p. bei laktierenden Stuten auf einem um ca. 1 mmol/l niedrigeren Niveau (HEIDLER et al. 2004).

## 2.3 Stoffwechselparameter

Die Parameter werden in Lipidstoffwechsel, Leberstoffwechsel, Protein- und Muskelstoffwechsel unterteilt dargestellt.

### 2.3.1 *Lipidstoffwechsel*

Das Fettgewebe ist nicht nur als reiner Energiespeicher, sondern als stoffwechselaktives und endokrines Organ zu betrachten.

Untersuchungen haben gezeigt, dass das Fettgewebe in Abhängigkeit von der Lokalisation im Körper unterschiedlich auf metabolische und hormonelle Stimuli reagiert. Zum Beispiel konnten DOREAU et al. (1993) nachweisen, dass die Milch von fetten Stuten einen höheren Fett-, aber einen geringeren Proteingehalt als die von mageren Stuten enthält.

Bei der Bestimmung der momentanen Lipidstoffwechsel-Situation werden in der vorliegenden Arbeit folgende Serumparameter zur Analyse verwendet: TG, Cholesterol, FFS und BHB.

#### 2.3.1.1 Triacylglycerole (TG)

Die TG werden entweder exogen mit der Nahrung aufgenommen oder endogen in den Hepatozyten synthetisiert. WATSON et al. (1993b) stellte eine Rasseabhängigkeit der TG fest, wobei die Ponys gegenüber Pferden höhere Konzentrationen aufweisen (Tabelle 1). Auch trächtige Stuten haben gesteigerte TG-Konzentrationen, nach dem Abfohlen bestehen gegenüber güsten Stuten keine Unterschiede (WATSON et al. 1993b).

Während eines Fastenstoffwechsels zeigten Pferde und Ponys einen Anstieg der VLDL-assoziierten TG im Blutplasma, der in dieser Höhe im Vergleich zu anderen Spezies beachtlich ist (SCHMIDT 1994). Zu erhöhten TG-Konzentrationen kommt es durch Anorexie (DÜHLMEIER 1998), Diabetes mellitus, Lebererkrankungen, Cholestasen, nephrotischen Syndrom, Hyperlipidämie der Ponys, Cushing-Syndrom und Hypothyreose (FÜRLI und SCHÄFER 1992a, BARTON 2004, DUNKEL et al. 2014).

Synthese und Abbau der TG sind hormonell gesteuert. Adrenalin, Noradrenalin, ACTH und Glukokortikoide, Glukagon und STH steigern die Lipolyse; Insulin und TSH wirken positiv auf die Lipogenese (HOCK 2003). DUNKEL und McKENZIE (2003) konnten bei zufällig ausgewählten Serumproben von inappetenten oder apathischen Pferden eine Erhöhung der TG feststellen, die häufig mit entzündlichen Veränderungen einhergingen. Endotoxin führt ebenfalls zu einer Erhöhung der TG-Konzentrationen (HARDARDOTTIR et al. 1994).

Extrem niedrige TG-Konzentrationen zeigen eine Leberzirrhose an, was auf eine mangelhafte Veresterungsfähigkeit der Leber zurückzuführen ist (GRABNER 1990).

Für Ponys gilt ein Referenzbereich von 0,44 bis 0,60 mmol/l (GIESELER 2012).

### 2.3.1.2 Cholesterol

Cholesterol, das in der Leber synthetisiert, sezerniert und aus dem Darm resorbiert wird, ist ein wesentlicher Bestandteil der Lipoproteine. Es dient u. a. als wichtiger Parameter der Erkennung von Leberstörungen, z. B. bei Hyperlipidämien (NAYLOR 1982a). Die Synthesefunktion der Leber wird unter anderem durch das Serumcholesterol widergespiegelt. Cholesterol wird auch in der Dünndarmmukosa und den Nebennieren synthetisiert (KERR 2001). Die Cholesterolsynthese wird vor allem durch kohlenhydrat- und triglyzeridreiche Nahrung induziert und durch Thyroidhormone gehemmt.

Die Cholesterol-Konzentration ist, ebenso wie die der LDL und HDL, bei Stuten während der Trächtigkeit sowie in der Laktation signifikant erhöht (WATSON et al. 1993a). Cholesterol steigt bei Pferden nach Hungerperioden nur in einem geringen Ausmaß an (NAYLOR et al. 1980a). Der Gehalt an Cholesterol im Serum ist erhöht bei Hyperlipidämie, Morbus Cushing, Cholestase, Diabetes mellitus, exsudativer Enteropathie, im Hungerstoffwechsel sowie bei Hypothyreose und Nephropathien.

Im Unterschied zum Menschen gilt Cholesterol bei Haustieren nicht als Risikofaktor für Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems (KERR 2001). Subnormale Cholesterolwerte sind selten (KERR 2001).

Bei Ponys liegt der Referenzbereich für Cholesterol zwischen 1,4 und 3,5 mmol/l (GIESELER 2012).

### 2.3.1.3 Freie Fettsäuren (FFS)

In Energiemangelsituationen werden die FFS aus dem Fettgewebe mobilisiert, die in der Leber entweder oxidiert oder zu TG verestert werden. Übersteigt die Synthese von TG infolge gesteigerter Anflutung von FFS die Kapazität des Abtransportes, kommt es zu einer Akkumulation im Gewebe und zur Ausbildung einer Leberverfettung. Dadurch können auch weitere Organfunktionen, wie z. B. die Proteinsynthese und Neutralisation von Endotoxinen, eingeschränkt werden. Erhöhte FFS hemmen die hepatische und die periphere Insulinwirkung (HAWKINS et al. 2003).

Die gleichzeitige Erhöhung der FFS- und BHB-Konzentrationen ist als Folge der peripartalen Lipolyse zu sehen. Bei gesunden Tieren stimulieren unter anderem die Endotoxine und TNF- $\alpha$  im starken Umfang die Lipolyse und steigern die FFS-Konzentration im Blut (HARDARDOTTIR et al. 1994). Auch niedrige Dosen von Endotoxin und TNF- $\alpha$  stimulieren die Synthese von FFS in der Leber. REINPRECHT et al. (2007) beschreiben einen Anstieg der FFS-Konzentration bei fastenden Pferden.

Energetisch übertensorgte Shetlandponys in bewegungsarmer Haltung haben signifikant erhöhte FFS-Konzentrationen (FÜRL und FIEDLER 1992).

FÜRL und FIEDLER (1992) beschreiben den Referenzbereich für Ponys mit 300 bis 500 µmol/l, der damit höher ist als der für Großpferde.

### 2.3.1.4 β-Hydroxy-Butyrat (BHB)

Das BHB zählt neben Acetacetat und Aceton zu den Ketonkörpern und entsteht durch Ketogenese hauptsächlich in der Leber, wobei die aus dem Fettgewebe mobilisierten FFS als Substrat dienen.

Im Gegensatz zu Untersuchungen an Rindern zeigen Pferde bei negativer Energiebilanz nur moderate Erhöhungen der Blutplasma-Ketonkörper-Konzentrationen, während die FFS und die TG wesentlich stärker ansteigen (PÖSÖ et al. 1989). Dieser Stoffwechselweg scheint bei den Equiden keine bedeutende Rolle zu spielen (BREIDENBACH 1996). Auch bei Ponys mit einer Hyperlipidämie kommt es nicht zur Ausbildung einer Hyperketonämie (NAYLOR et al. 1980b). FÜRL und SCHÄFER (1992a) stellten aber bei Ponys mit Hyperlipidämie signifikant gesteigerte BHB-Konzentrationen fest.

WATSON et al. (1992) gehen davon aus, dass Pferde nur über eine geringe Fähigkeit zur Ketogenese verfügen und es dadurch bei einer Fettmobilisation bei Ponys sehr leicht zu einer Hyperlipidämie und nicht zu einer Ketose kommt.

Der Referenzbereich wird für Ponys von 0,18 bis 0,22 mmol/l beschrieben (FÜRL und FIEDLER 1992).

### 2.3.2 *Leberstoffwechsel*

Die Leber stellt ca. 1,4% der Körpermasse des Pferdes und zeichnet sich bei der Vielzahl ihrer komplexen Funktionen durch eine erhebliche Regenerationsfähigkeit aus (COENEN und VERVUERT 2008), so dass Hepatopathien oft klinisch inapparent verlaufen, solange die funktionelle Organkapazität noch nicht erschöpft ist (GRABNER 1990). Der Stoffwechsel der Leber wird mit Hilfe der folgenden Parameter charakterisiert: Gesamtbilirubin, ASAT, GLDH, GGT, Glucose und AP.

#### 2.3.2.1 Gesamtbilirubin

Bilirubin entsteht aus dem Abbau von Hämoglobin überalterter Erythrozyten und wird als primäres, wasserunlösliches Bilirubin I an Transportproteine gebunden (GONDOLATSCH 2006). Über das Blut gelangt das primäre Bilirubin in die Leber, wird dort intrazellulär zum wasserlöslichen Bilirubin II konjugiert

und über die Galle ausgeschieden (THOMAS 2000). MILLER et al. (1993) beschreiben unkonjugiertes Bilirubin als Radikalfänger.

Eine Erhöhung der Gesamtbilirubin-Konzentration über 75  $\mu\text{mol/l}$  im Serum führt zum Ikterus (KYAW 2008). Bei Pferden in Hungerzuständen kommt es aufgrund steigender FFS im Blut zu einer kompetitiven Verdrängung des Bilirubins bei der Aufnahme in die Hepatozyten und somit zu einem Konzentrationsanstieg von primärem Bilirubin (NAYLOR et al. 1980a, KERR 2001). COENEN und VERVUERT (2008) beschreiben bei Pferden im Hungerstoffwechsel eine rückläufige Clearance-Rate der Leber von Bilirubin und anderen Stoffen um 50% über 3 bis 4 Tage.

Ein Ansteigen der Bilirubin-Konzentration von bis zu 160  $\mu\text{mol/l}$  kann der natürlichen Reaktion auf einen Energiemangel entsprechen (WINTER 2009). Bei inappetenten Pferden entspricht die Erhöhung Gesamtbilirubins dem Inanitionsikterus. Eine Erhöhung des unkonjugierten Bilirubins kann jedoch auch mit extrahepatischen Erkrankungen (Hämolyse, Herzinsuffizienz) und akuten Lebererkrankungen in Verbindung gebracht werden, während eine Erhöhung des konjugierten Bilirubins eine Cholestase anzeigt (BARTON 2004).

Für Tiere mit einer Fettleber ist die Erhöhung der Gesamtbilirubin-Konzentration im Blut eine typische Veränderung (FÜRLI und SCHÄFER 1992b, DUNKEL et al. 2014). Diese wird auf den Anstieg der FFS-Konzentration sowie auf einen erhöhten Erythrozytenumsatz mit gesteigertem Bilirubinstoffwechsel zurückgeführt (NAYLOR et al. 1980a).

Hypobilirubinämien kommen bei einem Mangel des Transportproteins Albumin vor (GRABNER 1990).

Shetlandponys weisen rassebedingt eine geringere Bilirubin-Konzentration auf als Warmblutpferde, was auf die unterschiedliche Trainingsbelastung zurückzuführen ist (GIESELER 2012). Hoch im Blut stehende Pferde zeigen höhere Bilirubin-Konzentrationen (HOCK 2003).

Bei Ponys gilt ein Referenzbereich von 5,5 bis 22,3  $\mu\text{mol/l}$  (GIESELER 2012).

### **2.3.2.2 Aspartat-Amino-Transferase (ASAT)**

Die ASAT ist ein intrazelluläres Enzym im Zytoplasma und in den Mitochondrien. Die Aktivität ist nicht organspezifisch, gilt jedoch beim Pferd als muskel- und nur gering als leberspezifisch (WURM 2004). Die ASAT reagiert bei Leberparenchymschäden sehr empfindlich (GRABNER 1990). Lebererkrankungen gehen einher mit signifikanten Erhöhungen von Gesamtbilirubin, GGT, AP, TP und einer Verringerung von Albumin. ASAT und GLDH haben nur einen ergänzenden diagnostischen Wert (DURHAM et al. 2003). Bei akuten Lebererkrankungen ist die ASAT gleichzeitig mit der GLDH erhöht (BARTON 2004).

Die ASAT wird vor allem im Zusammenhang mit dem Lumbago und dem Tying-up des Pferdes verwendet (OBER 2000). Dabei kommt es zuerst zum Anstieg der CK, dann der ASAT. Die Erhöhung der ASAT bleibt bis zu einigen Tagen länger erhalten als bei der CK.



Mit einer gleichzeitigen Bestimmung der CK als muskelspezifisches Enzym lassen sich ASAT-Aktivitätsveränderungen eindeutig der Leber oder der Muskulatur zuordnen.

Der Referenzbereich der ASAT-Aktivität von Ponys liegt bei 228-506 U/l (GIESELER 2012).

### **2.3.2.3 Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)**

Die höchste Aktivität der GLDH ist im zentrolobulären Bereich des Leberläppchens lokalisiert. Da sich die GLDH intramitochondrial befindet, kommt es erst bei schwereren Leberzellschädigungen mit Nekrosen zur Erhöhung ihrer Aktivität im Serum (GRABNER 1990). Über die gute Organspezifität und die mitochondriale Lokalisation der GLDH bestehen einheitliche Auffassungen (TSCHUDI 1984).

BAKARAT und FORD (1988) halten die GLDH nur für einen Indikator einer fortgeschrittenen zentrolobulären Leberzellnekrose. Eine deutlich erhöhte GLDH weist auf eine akute Leberzellnekrose hin (NIEDERMAIER et al. 2009). HOSPES und BLEUL (2007) beobachteten eine dreifache Zunahme der Aktivität der GLDH bei fastenden Stuten, DUNKEL et al. (2014) bei Ponys mit einer Hyperlipidämie. Bei Vergiftungen mit lebertoxischen Substanzen sowie bei akuter Rechtsherzinsuffizienz (Druckerhöhung in der Vena hepatica) kann es ebenfalls zur Erhöhung der GLDH-Aktivität kommen. Ein deutlicher Anstieg der GLDH tritt hypoxisch bedingt bei paralytischen Koliken auf (GRABNER 1990).

Der Referenzbereich für Ponys wird mit 1,9 bis 33,3 U/l beschrieben, der damit höher als bei anderen Pferderassen ist (GIESELER 2012).

### **2.3.2.4 $\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase (GGT)**

Die GGT kommt als membrangebundenes Enzym hauptsächlich in Leber, Niere, Pankreas, Milz und Dünndarm vor. Sie ist der sensibelste Parameter zur Bestimmung einer Hepatose (ANKRINGA et al. 2012). Beim Pferd wird die GGT als nützlicher Indikator zur Abklärung von Leberstörungen betrachtet.

Gleichzeitig erhöhte Aktivitäten von GGT und AP sind Hinweis auf eine intrahepatische Cholestase. Sind die Transaminasen normal und AP erhöht, so ist dies mit einer posthepatischen Cholestase vereinbar. Nach akuter Hepatitis werden erhöhte GGT-Aktivitäten länger beobachtet als die Erhöhung anderer leberspezifischer Enzyme. Auch bei chronischen Hepatiden und toxischen Leberstörungen findet man oft erhöhte GGT-Aktivitäten (GONDOLATSCH 2006). Eine Aktivitätserhöhung der GGT aufgrund von chronischen Leberdystrophien bleibt oft über Wochen oder Monate bestehen (GRABNER 1990). Die GGT-Enzymaktivität gilt in der Humanmedizin als früher Marker für Diabetes Typ 2 (PERRY et al. 1998, LEE et al. 2003).

Für die GGT besteht eine Rasseabhängigkeit, bei der die Shetlandponys signifikant höhere Aktivitäten zwischen 12,8 und 66,1 U/l aufweisen (GIESELER 2012).

### 2.3.2.5 Glucose

Glucose gehört zu den Monosacchariden und ist für den Organismus eines der wichtigsten energieliefernden Substrate (FISCHER und NAVARRETE-SANTOS 2003). Nach der Resorption gelangt die Glucose direkt in den Pfortaderkreislauf und wird als Energiereserve in die Leber und in den Muskel eingebaut, wo sie entweder als Glykogen gespeichert oder direkt zur Energiegewinnung oxidiert wird (MEYER und COENEN 2002).

Ein Anstieg des Blutzuckerspiegels, wie er z. B. nach einer Fütterung mit Hafer auftritt, führt zu einer vermehrten Sekretion von Insulin, dem wichtigsten Hormon der Glucosehomöostaseregulation (RASSMUSSEN et al. 1990). Hyperglykämien treten auf bei Diabetes mellitus, Insulinresistenz und verstärkter Glukoneogenese infolge einer Glukokortikosteroiderhöhung (bei Stress, Hyperadrenokortizismus, Behandlung mit Kortikosteroiden), Hyperthyreose, bei Konvulsionen und nach Nahrungsaufnahme (HOCK 2003).

Es gilt heute als gesichert, dass der Hyperlipidämie eine Insulinresistenz zugrunde liegt und die Glucosekonzentration im Krankheitsverlauf typischerweise erhöht ist (McCANN et al. 1987, GENTRY et al. 2002, BUFF et al. 2005, KRONFELD et al. 2006, TREIBER et al. 2006, BERG et al. 2007, DURHAM et al. 2008, WEYENBERG et al. 2008, DÜHLMEIER et al. 2010, GEORGE et al. 2011, KARIKOSKI et al. 2011, HOLDSTOCK et al. 2014, DUNKEL et al. 2014).

KRAUSE und McKENZIE (2007) beschreiben einen deutlichen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Hyperglykämien und der Anzahl der Todesfälle bei septischen Fohlen.

Bei einer Vielzahl von Pferden werden transiente, Glucocorticoid- oder stressbedingte Hyperglykämien beobachtet, die auch bei einer Insulinresistenz durch Trächtigkeit oder erhöhtes Körperfett verursacht werden können (LABOKLIN 2005). Tragende Vollblutstuten haben eine geringere Insulinsensitivität sowie eine höhere Insulinantwort auf Glucosezufuhr als nichttragende Stuten und somit eine schnellere Glucose-Clearance (GEORGE et al. 2011). Glucose, TP und Albumin bleiben während der Trächtigkeit und Laktation relativ konstant, Harnstoff steigt dann zur Laktation an (HARVEY et al. 2005). HEIDLER et al. (2003) konnten zeigen, dass die Konzentration der Glucose konstant um ca. 1 mmol/l erniedrigt ist bei laktierenden gegenüber trächtigen Stuten.

Glucosemangel gilt als Startmechanismus für die Hyperlipidämie. Andere Ursachen für eine Hypoglykämie können Sepsis, ECS, Hepathopathien oder ein Malassimilationssyndrom sein.

Für Ponys gilt ein Referenzbereich zwischen 4,6 und 6,3 mmol/l (FÜRLI und FIEDLER 1992).

### **2.3.2.6 Alkalische Phosphatase (AP)**

Die AP, ein membrangebundenes Enzym, kommt in hoher Aktivität in den Osteoblasten, renalen Tubuli, Epithelien des Gallengangs, Darmmukosa sowie der Plazenta vor und ist beim Pferd besonders hoch im Dickdarm.

Die Aktivität der AP im Blutplasma hängt vom Alter der Tiere ab (GIESELER 2012). Laut POELSTRA et al. (1997) ist die AP wahrscheinlich imstande, LPS zu inaktivieren. Die AP kann durch Dephosphorylierung die Endotoxinaktivität des LPS reduzieren (KRÜGER und RÖPKE 1998).

Ein hepatisch bedingter Anstieg der AP-Aktivität tritt bei intra- oder posthepatischen Cholestasen auf (GRABNER 1990). Die AP ist erhöht bei Störungen des Gallenabflusses und bei Krankheiten, die mit verstärkter Osteoblastenaktivität verbunden sind, v. a. im juvenilen Organismus. Ein deutlicher Anstieg von AP und GGT weisen auf eine chronische Lebererkrankung hin (NIEDERMAIER et al. 2009). Nach Applikation von Corticosteroiden kommt es zur Induktion der AP. Daneben kommt es zur Erhöhung der AP bei schweren Leberintoxikationen, Hyperthyreosen und bei Gravidität. Sind erhöhte AP-Aktivitäten von verstärkter Bilirubinausscheidung im Urin begleitet, ist dies ebenfalls ein starker Hinweis für eine Cholestase (NIEDERMAIER et al. 2009). Bei Hyperlipidämie kann die AP-Aktivität beträchtlich ansteigen (NAYLOR et al. 1980a, FÜRLI und SCHÄFER 1992a, DUNKEL et al. 2014) und besitzt einen prognostischen Wert.

Bei Ponys gilt der Referenzbereich der AP-Aktivität von 96 bis 370 U/l (GIESELER 2012).

### **2.3.3 Protein- und Muskelstoffwechsel**

Zur Beurteilung des Protein- und des Muskelstoffwechsels werden folgende Blutparameter herangezogen: TP, Albumin, Harnstoff, Creatinin und CK.

#### **2.3.3.1 Totalprotein (TP)**

Die Proteinfractionen werden überwiegend in der Leber gebildet, wobei der Serumspiegel vom Gleichgewicht zwischen Synthese und Abbau abhängig ist (GRABNER und DIETZ 2005).

Bei einer Erhöhung handelt es sich entweder um eine Pseudohyperproteinämie infolge einer Dehydration oder um eine Hyperglobulinämie aufgrund der Induktion der Akute-Phase-Proteine oder Hyperfibrinogenämie infolge chronischer Infektionskrankheiten (THOMAS 2000). Eine absolute Hyperalbuminämie gibt es nicht (HOCK 2003). Veränderte Werte kommen meistens bei jungen Pferden sowie Pferden über 18 Jahren vor. Bei den jüngeren Pferden sind niedrigere Werte aufgrund von Proteinverlusten, z. B. bei Diarrhoe, häufiger, bei den älteren sind insbesondere erhöhte Werte zu finden (LABOKLIN 2005).

Hypoproteinämien treten bei verminderter Synthese aufgrund Hepatopathien, chronischer Enteropathien, Tumorerkrankungen oder bei Proteinverlusten auf (THOMAS 2000). Eine deutliche Hypoproteinämie intraoperativ im Verlauf einer Kolikerkrankung zeigt eine ungünstige Prognose an (KELLEHER et al. 2013).

Der Referenzbereich für TP bei Shetlandponys ist von 67,3 bis 75,3 g/l (GIESELER 2012).

### **2.3.3.2 Albumin**

Die Albumine bilden mit 45-60% den größten Anteil des Gesamtproteingehalts im Blut. Sie werden in der Leber synthetisiert (STEHLE 2001).

Es ist durchaus möglich, dass bei an sich normaler Serumproteinkonzentration der Anteil des Albumins zu tief (z. B. bei chronischer Lebererkrankung) und jener der Globuline aufgrund von Entzündungen zu hoch ist (THOMAS 2000). Eine Hyperalbuminämie tritt nur scheinbar im Zusammenhang mit einer Dehydration auf (HOCK 2003).

Erniedrigte Albuminwerte kommen mit Verlusten aufgrund von Blutungen, Verbrennungen oder Parasitenbefall, gastrointestinalen Störungen, welche mit Absorptionsstörungen einhergehen, Leberkrankheiten mit verminderter Synthese sowie Nierenkrankheiten, in deren Folge Proteinverluste auftreten, vor (STEHLE 2001). Eine Hypalbuminämie zeigt auf eine schon fortgeschrittene Lebererkrankung. Bei Versorgungsdefiziten der Leber fehlen dem Organ wichtige Substrate, wie z. B. Aminosäuren und Glucose, unter anderem für die Albuminsynthese (COENEN und VERVUERT 2008). Hypalbuminämien treten aber auch bei einem Malabsorptionssyndrom, einer chronischen Gastritis und chronischen Nephropathien auf (GRABNER 1990).

Für Ponys wird ein Referenzbereich von 23,3 bis 37,7 g/l angegeben (GIESELER 2012).

### **2.3.3.3 Harnstoff**

Harnstoff ist das wichtigste Abbauprodukt des Proteinstoffwechsels. Die Leber wandelt in den Mitochondrien Ammoniak, der beim Proteinabbau entsteht, zu Harnstoff um.

Eine Erniedrigung von Harnstoff tritt auf bei schweren Leberstörungen (COENEN und VERVUERT 2008), sehr warmer Witterung sowie großer Wasseraufnahme (HACKLECHNER 1993). Jüngere Pferde weisen krankheitsbedingt oder bei Proteinmangel erniedrigte Konzentrationen auf (LABOKLIN 2005). Ein Absinken der Harnstoffkonzentration erfolgt in der Regel durch Fütterungsfehler, seltener durch schwere Hepatopathien (TSCHUDI 1984). Allerdings liegen bei Pferden deutlich mehr Harnstoff- als Creatininwerte außerhalb der Norm, was mit der Abhängigkeit von der Proteinversorgung zu erklären ist (SCHUSSER et al. 2008).

Pathologisch erhöhte Harnstoffkonzentrationen haben ihren Ursprung prärenal (bei Dehydratation, bei verstärktem Proteinabbau bei Energiemangelzuständen, bei Fieber, Nekrosen, Herz- und Kreislaufinsuffizienz sowie lokalen Durchblutungsstörungen), renal (bei akuten oder chronischen Nephritiden, Glomerulonephritiden und Nierentumoren) oder postrenal (bei gestörtem Harnabfluss).

Eine erhöhte Harnstoffkonzentration in Verbindung mit einer Erhöhung der Creatininkonzentration tritt bei verschiedenen Niereninsuffizienzen bei Pferden auf (KLOTZ 2004).

Bei Ponys gilt ein Referenzbereich von 3,9 bis 9,2 mmol/l (GIESELER 2012).

### 2.3.3.4 Creatinin

Creatinin ist ein Metabolit des Muskelstoffwechsels und wird konstant durch die Nieren ausgeschieden. Creatinin wird gebildet aus Creatin und Phosphocreatin. Sein Hauptteil im Urin wird in den Glomerula filtriert (ESPELAGE 1995). Bei gut trainierten Pferden mit vermehrter Muskelmasse ist die Blutplasmakonzentration gegenüber nicht trainierten etwas erhöht (KRONER 2006).

Die Erhöhung der Blutplasmakonzentration ist ein Hinweis auf verschiedene Formen von Nierenstörungen (HOCK 2003). Die Abweichung vom Normwert des Creatinins wird ähnlich wie beim Harnstoff interpretiert, außer dass proteinreiche Fütterung keinen Einfluss hat. Erhöhte Konzentrationen von Harnstoff und Creatinin treten allerdings teilweise erst dann auf, wenn 60 bis 70% der Nephronen in ihrer Funktion eingeschränkt sind, womit die diagnostische Empfindlichkeit der Harnstoff- bzw. Creatininbestimmung nicht besonders hoch ist (HACKLECHNER 1993). ROSE et al. (1980) ermittelten bei dreitägigen Pferderennen, dass bestimmte Parameter zeitverzögert ansteigen, so u. a. Creatinin, Glucose, Bilirubin, diverse Leberenzyme, aber auch Albumin und Harnsäure. Eine experimentell induzierte Endotoxämie hat keinen Einfluss auf die Creatininkonzentration (MOORE et al. 2007).

Auffallend ist eine Rassenabhängigkeit der Creatininkonzentration, wobei Shetlandponys signifikant niedrigere Werte aufweisen. Der Referenzbereich für Ponys liegt von 44 bis 122  $\mu\text{mol/l}$  (GIESELER 2012).

### 2.3.3.5 Creatinkinase (CK)

Die CK dient der Bereitstellung von ATP aus Kreatinphosphat und ADP. Sie kommt in der Skelettmuskulatur (im Zytoplasma und den Mitochondrien), im Herzmuskel sowie im Gehirn vor und gilt beim Pferd als muskelspezifisch (WURM 2004).

Eine Erhöhung der CK tritt auf bei starker Anstrengung, Traumen und aufgrund physikalischer Zerstörung von Myozyten (THOMAS 2000), bei längerer Anorexie (VOLBRACHT 2004), bei Schock (infolge Minderdurchblutung der Muskulatur), bei Lumbago, Tying-up, Weißmuskelkrankheit bzw. Vitamin

E-/ Selenmangel-Myopathie (MAAS et al. 2002), bei länger dauerndem Festliegen (self-crush) sowie bei Tetanus.

Die CK-Aktivität korreliert mit dem antioxidativen Status (MARLIN et al. 2002, SATTLER und FÜRL 2004, EL-DEEB und EL-BAHR 2010). Gesunde, trainierte Pferde haben gegenüber untrainierten leicht erhöhte CK-Aktivitäten (MUNOZ et al. 2002).

Bei Ponys gilt ein Referenzbereich von 168 bis 880 U/l (GIESELER 2012).

## 2.4 Leukozyten

Die Gesamtleukozytenzahl ist von unterschiedlichen Faktoren abhängig (Tabelle 3). Daher bedarf die Interpretation dieser Messgröße immer der differenzierten Betrachtung der äußeren Gegebenheiten.

**Tabelle 3:** Ursachen für Änderungen der Gesamtleukozytenzahl (nach KROSCINSKY et al. 2007 und JOLKMANN 2005)

Leuko- zytose	Physiologisch	Aufregung, fremde Umgebung, körperliche Belastung, Gravidität, Geburt
	Pathologisch	Infektionskrankheiten: (systemische und lokale) durch Bakterien, Pilze, Rickettsien, Protozoen
		Endogene Intoxikationen: Diabetes mellitus, Urämie, Resorption toxischer Stoffwechselprodukte aus dem Darm
		Exogene Intoxikationen: Pb, Tl, Hg, Natriumchlorat, Phenazetin
		Resorption körpereigener Proteine: Hämatome, Muskelprellungen, Tumoren
		Resorption körperfremder Proteine: Seruminjektionen, Bluttransfusionen
		Endokrin: Überfunktion von Nebennierenrinde und -mark oder Schilddrüse (Kortikosteroide, ACTH, Adrenalin, Schilddrüsenhormone)
		Erkrankungen des Gehirns: Traumen, Tumore, Blutungen, Enzephalitiden, Leukosen
Leukopenie	Virale Infektionen	
	Bakterielle Infektionen mit erhöhtem Leukozytenverbrauch (nach anfänglicher Leukozytose): Peritonitis, Endometritis, Salmonellose	
	Endotoxinschock, Anaphylaktischer Schock	
	Zellgifte, Zytostatika: Phenylbutazon, Vincristin, Cyclophosphamid	

Die Lymphozyten werden von bakteriellem Endotoxin stimuliert (TRUDEWIND 2004). Bei Endotoxinwirkung sind die Leukozyten im Allgemeinen erniedrigt. BARTON et al. (1998) beschrieben folgende Reaktion nach Endotoxingabe:

Innerhalb von zwölf Stunden stieg bei den Tieren die Rektaltemperatur bis um zwei Grad an und die Herz- und Atemfrequenz erhöhten sich mittelgradig. Initial entstand eine Leukopenie mit anschließender Leukozytose.

Ein analoges Leukozytenverhalten wurde auch von weiteren Autoren beschrieben (BURROWS 1981, BLANCHARD et al. 1985, DUNKLE et al. 1985, EWERT et al. 1985, MORRIS 1991, ALLEN et al. 1996, CALTABILOTA et al. 2010, HUFF et al. 2010).

GIESELER (2012) wies einen altersabhängigen Abfall der Leukozytenzahl bei Pferden nach. Der Referenzbereich für Ponys in Ruhe wird mit 5,5 bis 12,9 G/l angegeben. Damit haben die Shetlandponys infolge des signifikant größeren Anteils an Lymphozyten eine höhere physiologische Leukozytenzahl als andere Pferderassen (GIESELER 2012).

## 2.5 Endotoxine

Bei höheren Lebewesen lösen Endotoxine in Abhängigkeit von der Empfindlichkeit der Tierart, der Dosis, Route, der Bakterienspezies, den Kulturbedingungen, den Reaktionsbedingungen sowie der spezifischen Wirtstiersituation eine weite Spanne von Reaktionen aus, die von positiven, das Immunsystem stimulierenden, bis zu tödlichen Zusammenbrüchen unter Schock reichen. Bei einer Gram-negativen Infektion oder Sepsis ist die herausragende Bedeutung der Endotoxine für die Pathogenese anerkannt. Dagegen wird die Rolle der Endotoxine bei nichtinfektiösen Erkrankungen, die als Endotoxin-assoziiert bezeichnet werden, als eigentliche Ursache entweder über- oder unterschätzt (KRÜGER et al. 2002).

### 2.5.1 Definition der Endotoxine

Endotoxine (Synonym Lipopolysaccharide, LPS) sind Bestandteil der äußeren Membran Gram-negativer Bakterien (PARKER et al. 1995). Chemisch gesehen handelt es sich bei den Endotoxinen um ein hitzestabiles LPS (FREUDENBERG 1997), dessen toxisches Bestandteil die Hydroxymyristinsäure darstellt.

Zu den Endotoxin-Bildnern gehören vor allem Enterobakterien und Coliforme (GEERDES-FENGE et al. 1994):

- Enterobakterien: *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*
- Nichtenterobakter: *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoe*, *Bordetella pertussis*, *Haemophilus influenzae*, *Yersinia pestis*, *Leptospiren*, *Vibrio parahaemolyticus*

### 2.5.2 *Endotoxinwirkungen*

Für Pferde liegen systematische Untersuchungen über Endotoxinwirkungen in der Pathogenese verschiedener Krankheiten vor. Das betrifft auch die metabolischen Folgen bezüglich Störungen des Energie-Fett-Stoffwechsels bei der Hyperlipidämie, dem EMS und dem ECS (BURROWS 1981, BLANCHARD et al. 1985, DUNKLE et al. 1985, EWERT et al. 1985, MORRIS 1991, ALLEN et al. 1996, CALTABILOTA et al. 2010, HUFF et al. 2010).

Alle Endotoxine sind potentiell pyrogen (FRANK et al. 2002). Endotoxin gehört zu den stärksten die Immunabwehr stimulierenden biologischen Substanzen. So werden Antikörper vor allem gegen die Polysaccharid-Komponenten im Endotoxin-Molekül gebildet, die ein relativ hohes kreuzreagierendes Potential besitzen und auch gegen heterologe LPS gerichtet sind. Endotoxine aktivieren Immunzellen, die dann eine gesteigerte Aktivität gegenüber Infektionserregern, aber auch gegen maligne Tumore aufweisen. Durch Endotoxine werden inflammatorische Prozesse in Gang gesetzt, die in Form der Akute-Phase-Reaktion ablaufen (ANDERSON et al. 1996).

LPS kommen in der Umwelt wie auch im Darmlumen eines Wirtes vor, ohne toxische Wirkung zu entfalten. Gelangen sie in den Körper, werden sie von Rezeptorstrukturen auf Zellen des mononukleären Phagozytensystems erkannt. Die Bindung an den hochaffinen LPS-Rezeptor CD-14 führt zur Aktivierung sogenannter „Immune Response Genes“, d. h. zur Produktion von Monokinen wie TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 oder Sauerstoffradikalen, NO oder PAF (MORRIS 1991, PATERSON und WEBSTER 2000). Diese Mediatoren sind für eine frühe antibakterielle Abwehr durch die Zellen der unspezifischen Abwehr (WRIGHT et al. 1990), aber auch für eine Beeinflussung der spezifischen Immunantwort wesentlich.

TNF- $\alpha$ , NO, O<sub>2</sub><sup>-</sup> oder z. B. PAF induzieren bei systemischen Entzündungen Gewebsuntergänge, erhöhen die Gefäßpermeabilität und können über Multiorganversagen und septischen Schock zum Tode führen (MORRIS 1991, GALLE 2009). Andererseits können Monozyten oder Makrophagen durch wiederholte Exposition mit niedrigen LPS-Dosen in eine andere Reaktionslage umgeschaltet werden. Sie reagieren auf eine nachfolgende LPS-Stimulation mit antiinflammatorischen Zytokinen (RANDOW et al. 1995). Patienten in der Spätphase einer Sepsis erliegen bakteriellen Infektionen, weil sie in eine derartige hypoinflammatorische Phase geraten (VOLK et al. 1993). Endotoxine können also je nach Dosis und zeitlicher Abfolge entweder klinisch relevante Schockzustände verursachen oder aber das unspezifische Abwehrsystem auf Antiinflammation umschalten, so dass zwar eine LPS-Toleranz entsteht, gleichzeitig aber die antibakterielle Antwort supprimiert wird. Letzteres wäre z. B. bei Störungen der Darmdurchblutung oder anderen Gründen für Endotoxin-Übertritte in Betracht zu ziehen (BROCK-UTNE et al. 1988).

In der Zirkulation befindliche freie Endotoxine führen zu hämodynamischen Effekten, ausgelöst durch Koagulopathien (FEGHALI und WRIGHT 1997), die durch gesteigerte Herzauswurfleistung bei unverändertem oder leicht erniedrigtem Blutdruck, allgemeiner Stoffwechselumsatzsteigerung (hyperdynamische Phase), Hyperventilation und verkürzte Kapillarfüllungszeiten charakterisiert sind.



Gelingt es nicht, diese Kaskade zu unterbrechen, führt der weitere Verlauf in die hypodynamische Phase, charakterisiert durch systemische Hypotension, herabgesetzter Herzauswurfleistung, erniedrigtem zentralen Venendruck und Anstieg des peripheren Gefäßwiderstandes, verbunden mit Hypothermie, Tachykardie, Dyspnoe und zyanotischen Schleimhäuten (MORRIS 1991, FEYERABEND 1999).

Für die nach Übertritt, Freisetzung oder Inokulation in der Zirkulation vorliegenden Endotoxine ergeben sich verschiedene Interaktionen. LPS binden an eine Vielzahl von Körperzellen, insbesondere an Makrophagen, Neutrophile und Monozyten. Von den zahlreichen Fängermolekülen, die LPS effektiv binden, sind LBP, Lipoproteine, Hämoglobin, Serumamyloid A, Laktoferrin, Bakteriden, Permeabilitätssteigernde Faktoren, Lysozym und Anti-LPS-Antikörper von Bedeutung (BALA 2009).

Einige, bisher noch nicht endgültig bestätigte Ergebnisse sprechen für die Deponierung von Endotoxin im Fettgewebe, wobei die Konzentrationen in den einzelnen Deponien (subkutanen Fett, Herzkranzfett, Nierenfett, viszerales Fett) verschieden sind (KRÜGER et al. 2002).

### **2.5.3 Endotoxinämie**

Die Sepsis ist die gravierendste infektiös bedingte Endotoxämie. Lokale Infektionen durch Gram-negative Bakterien der Schleimhäute führen sowohl zu Übertritten intakter Bakterien als auch ihrer LPS. Infektionen des Respirationstraktes, die zu einer Reduzierung der Sauerstoffversorgung führen, verursachen aufgrund der Ischämien Mikrozirkulationsstörungen besonders im Ileum und Zäkum. Die sich dadurch ergebenden Barrierenniederbrüche schalten eine sich selbst steuernde Spirale an, die immer mehr bakterielle Strukturen einschließlich intakter Erreger in den Kreislauf bringt.

Weitere Ursachen für Translokationen stellen bakterielle Besiedelung des Futters, Infektionen des Gastrointestinaltrakt durch virale, bakterielle, mykotische und parasitäre Erreger, physische Belastungen (z. B. Hochleistungssport, Geburtsarbeit), Antibiotikumbehandlungen, Verbrennungen sowie psychische Belastungen dar (KRÜGER et al. 2002).

Neben Letalität und Pyrogenität werden vor allem beobachtet: Lokales und generalisiertes Sanarelli-Shwartzman-Phänomen, Aborte, Endotoxinschock, induzierte Endotoxintoleranz, die Wirkung auf Blutbestandteile, -faktoren und -gefäße, Thrombozytenaggregation, DIC, Stoffwechseleränderungen, Makrophagenaktivierung, mitogener Effekt auf B-Zellen der Langerhans'schen Inseln sowie immunssuppressive Wirkung (NEUDER et al. 2009).

### **2.5.4 Endotoxinschock**

Gelangen Endotoxine durch intestinale Resorption in die Blutbahn oder werden sie aufgrund einer Septikämie mit Gram-negativen Bakterien im Kreislaufsystem gebildet und freigesetzt, führen diese

Endotoxine dosisabhängig (TSI et al. 2002) zum klinisch manifesten Schock mit folgenden Veränderungen: Hypotonie, Hyperthermie, Atmungs- und Herzfrequenzsteigerung und DIC sowie schlussendlich zu Atmungsverlangsamung, Zunahme des Hämatokrits sowie Leukozyten-, Thrombozyten- und Eosinophilenabfall (MORRIS 1991, COHEN 2002).

### 2.5.5 *Neutralisation und Inaktivierung der Endotoxine*

Eine gewisse Menge Endotoxin ist im Blut immer vorhanden. Ein Großteil der in die Blutbahn gelangten Endotoxine wird an das Lipoprotein bindendes Protein LBP und teilweise an Chylomykronen gebunden (FREUDENBERG et al. 1980). Normalerweise werden die Endotoxine durch verschiedene plasmatische Komponenten, wie Lipoproteine, Albumine, Kationen sowie zelluläre Anteile wie Granulozyten, Makrozyten, Endothelzellen, Hepatozyten und Monozyten neutralisiert (HURLEY 1995). FREUDENBERG (1997) beschreibt die Leber als Zentrum der Endotoxin-Elimination: LPS wird anfangs von den sinusoidalen Zellen und den Granulozyten aufgenommen. Später findet eine Translokation in die Hepatozyten statt.

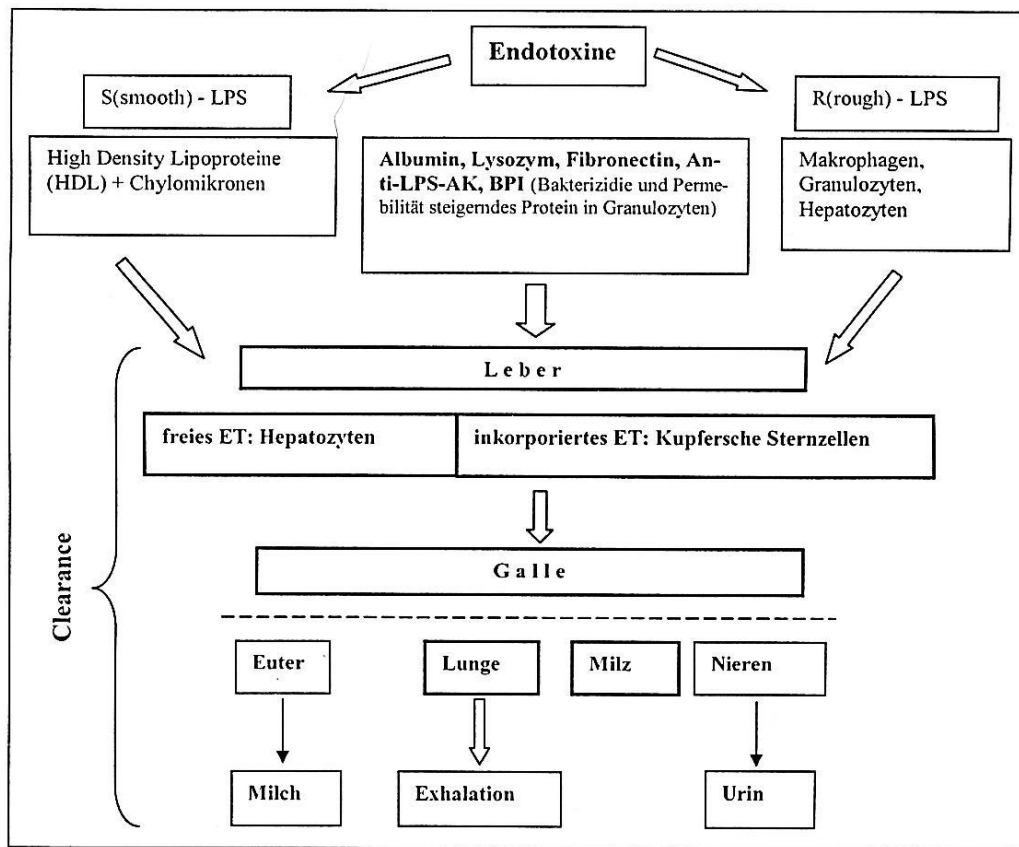
Dadurch kann die Ausscheidung der Endotoxine über die Gallenwege und den Darm erfolgen. Dieser Vorgang ist sehr langwierig und dauert mehrere Wochen. Im Gegensatz dazu ist das mononukleare Phagozytensystem in der Lage, Endotoxine sehr schnell aus dem Blutkreislauf zu eliminieren, zusätzlich findet eine Ausscheidung von Endotoxinen über die Makrophagen der Lunge statt (FREUDENBERG 1997).

Die Lipoproteine werden als wesentlicher Faktor bei der Detoxifizierung und Ausscheidung von freiem Endotoxin angesehen (PARKER et al. 1995). KRÜGER und RÖPKE (1998) schreiben, dass Lipoproteine, insbesondere HDL, LPS durch Integration des hydrophoben Moleküls (Lipid A) fest in die Lipoproteine binden (Abbildung 1). So komplexiert die S-Form des LPS bevorzugt mit HDL und neutralisiert dessen biologische Aktivität (ZHANG et al. 1995). Eine verminderte HDL-Konzentration kann somit weniger Endotoxin binden, damit dem Makrophagenkontakt ungenügend Endotoxin entziehen und den Hepatozyten zuführen (CROSS und OPAL 1995) bzw. in das Fettgewebe einlagern (FREUDENBERG 1997). NORTHOFF et al. (1992) schreiben diese Aufgabe vorrangig dem LDL, welches eine Art Puffersystem für das LPS darstellt, zu.

FRITSCH (1998) stellte fest, dass am Tag nach dem Endotoxin-Peak CRP seinen Höchstwert erlangte, um dann einen Tag später wieder auf seinen Ausgangswert abzufallen. Er vermutete, dass die CRP-Konzentrationen während der Akuten Phase offensichtlich von der Intensität der Endotoxin-Exposition abhängig sind.

Weitere Blutkomponenten wie Serumalbumin, Salze der Gallensäuren, zweiwertige Kationen, Lysozym und Fibronektin, sind in der Lage, LPS zu komplexieren und zu inaktivieren (HURLEY 1995). Ergebnisse von FRITSCH (1998) bestätigten dies mit einer negativen Korrelation der beiden Parameter

Endotoxin und Albumin. Selbst eine Hypomagnesämie hat negative Auswirkungen auf die systemische Reaktion auf Endotoxine (STEWART 2011).



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung des physiologischen Endotoxin-Metabolismus (FÜRLI et al. 1998)

### 2.5.6 Endotoxin-bedingte Erkrankungen beim Pferd

Das Endotoxin Gram-negativer Bakterien führt häufig zu pathophysiologischen Zuständen in der Form eines Kreislaufzusammenbruchs. Beim Pferd führt das komplexe Geschehen zu vielfältigen klinischen Symptomen der Endotoxämie, zu denen kardiovaskuläre, zentralnervöse, gastrointestinale und hämatologische Veränderungen zählen (HAMMOND et al. 1999).

Endotoxin wird als wichtiger Mediator beim septischen/ endotoxischen bzw. zirkulatorischen Schock angesehen. Im Vergleich zu anderen Spezies reagiert das Pferd gegenüber parenteral appliziertem LPS sehr sensibel. Es wird vermutet, dass bei Pferden Endotoxine an der Pathogenese verschiedener wichtiger Erkrankungen beteiligt sind. So können bei akutem gastrointestinalen Geschehen Endotoxine im Bauchpunktat nachgewiesen werden, die vom ischämischen oder entzündeten Darm freigesetzt worden sind. Die lokale und systemische Wirkung beruht auf einer Aktivierung von Zellen zur Synthese von Effektormolekülen, die wiederum für die pathologischen Auswirkungen einer Endotoxämie verantwortlich

sind. Gelangen LPS in die Blutbahn, werden durch proinflammatorische Mediatoren, die infolge von Bakteriolyse oder Granulozytendesintegration freigesetzt werden, verschiedene Reaktionen hervorgerufen (PIERO et al. 1999).

Fütterung, Futterzusammensetzung und -inhaltsstoffe haben einen wesentlichen Einfluss auf die Endotoxin-Anflutung im Gastrointestinaltrakt und die Endotoxin-Konzentration im Organismus (ZEYNER et al. 1997, PLEASANT et al. 2013, BURNS et al. 2014).

Endotoxämie beim Pferd ist ein bekanntes Phänomen, welches in der Pathophysiologie verschiedener Erkrankungen eine Rolle spielt. Sie ist als komplexes Syndrom zu betrachten, bei dem zelluläre Aktivierung und Freisetzung biochemischer Mediatoren im Vordergrund stehen. Im Vergleich zu anderen Spezies reagiert das Pferd auf Endotoxinwirkung sehr sensibel mit hämodynamischen Störungen (BAILEY und ELLIOTT 1999).

Durch experimentelle Applikation von TNF- $\alpha$  lässt sich klinisch eine Endotoxämie auslösen. Bei neugeborenen septikämischen Fohlen und bei endotoxämischen Kolikern stellte sich ein Zusammenhang zwischen TNF- $\alpha$ -Aktivität im Blutplasma und Mortalitätsrate heraus (BARTON et al. 1998).

### 2.5.6.1 Hufrehe

Unter Hufrehe versteht man die pathologische Auflockerung oder Ablösung der lamellären dermalen-epidermalen Verbindung zwischen innerer Hufwand und distaler Phalanx (KALCK et al. 2009). Bei den systemischen Reheerkrankungen besteht eine vergleichbare Ätiologie und Symptomatologie, wie sie beim Exo- und Endotoxinschock in der Humanmedizin bekannt sind. Die akute Hufrehe teilt viele Merkmale mit dem Sepsis-assoziierten Organversagen (TADROS et al. 2012). PATAN-ZUGAJ et al. (2012) wiesen Endotoxin als ursächlichen Faktor für die Entwicklung einer Hufrehe nach.

Das Auftreten der mit Weidegang assoziierten Hufrehe kann mit erhöhten Insulin- und Leptinwerten in Verbindung gebracht werden, ebenso mit einem hohen BCS, entwickelt von KIENZLE und SCHRAMME (2004), sowie einer Insulinresistenz (BURROWS 1981, BLANCHARD et al. 1985, MORRIS 1991, ALLEN et al. 1996, BELKNAP et al. 2007, VICK et al. 2007, TREIBER et al. 2009, HUFF et al. 2010, KARIKOSKI et al. 2011). Weitere prädisponierende Faktoren für eine Reheentwicklung, wie Infektionen, Toxämien, falsche Ernährung, einseitige Belastung, unkorrekter Hufbeslag, Klima und Konditionszustand sind bekannt (NEUBERT 2006).

Die endokrinen Faktoren, die für die Entstehung der Hufreheerkrankung von Bedeutung sind, werden unter dem Begriff des EMS (Punkt 2.1.3.3) zusammengefasst (REICHEL et al. 2009). Der Glucose- und Fettstoffwechsel, Cortisol, Insulin sowie die Schilddrüsenhormone können dabei auf unterschiedliche Weise eine Rolle spielen (NEUBERT 2006). Eine genetische Disposition für diese Hufrehe wird sicherlich vorliegen, auslösend jedoch sind meist die Haltungsbedingungen, vor allem reichhaltige Weiden (CARTER

2009). Bei einer Überfütterungsreihe scheint initial eine Thrombosierung im Gefäßsystem der Lederhaut zu erfolgen (BAILEY et al. 2009).

In mehr als 50% aller Fälle entwickelt sich eine Rehe sekundär nach Störungen im Gastrointestinaltrakt, wie Colitis, proximaler Enteritis, Obstruktion oder Strangulation, übermäßiger Aufnahme von Kohlenhydraten und Fruktanen in frischem Gras oder Trinken von zu kaltem Wasser (ZEYNER et al. 1997, GEOR 2009).

Aufgrund des entzündlichen Charakters einer Rehe kommt es wahrscheinlich zu Veränderungen der Konzentrationen der Akute-Phase-Proteine. Während in einer Studie im Blutplasma von Pferden mit einer durch Kohlenhydrate induzierten Rehe Endotoxin nachgewiesen werden konnte, gelang dieser Nachweis in zwei anderen Studien nicht (FAGLIARI et al. 1998, TREIBER et al. 2009).

Am Modell der klassischen Überfütterungsreihe infolge Kohlenhydratüberladung, insbesondere mit Fruktanen, kann belegt werden, dass der Rehesymptomatik zahlreiche Veränderungen im intestinalen Mikroklima vorausgehen (MILINOVICH et al. 2008). Die Aufnahme von 7,5 g Fruktan/ kg KM führt beim Pferd sicher zur Hufrehe, die Mindestdosis ist nicht bekannt (VERVUERT 2009). BAILEY et al. (2007) finden bei Ponys mit rezidivierender Rehe als Ursache eine Insulinresistenz, die nicht durch eine basale Hyperinsulinämie zu identifizieren ist. Im Zäkum fällt der pH-Wert mit erhöhten Endotoxin- und Laktatkonzentrationen. Streptokokken und Laktobazillen vermehren sich auf Kosten Gram-negativer Keimpopulationen. Diese Erkenntnisse deuten darauf hin, dass der Überfütterungsreihe eine erhöhte Durchlässigkeit der Magen-Darm-Schranke vorausgeht, die wiederum zu einer Toxämie führen könnte (VERVUERT 2009). Bakterielle Toxine könnten dann für die Aktivierung von Thrombozyten mit Ablagerung von Plättchen-Aggregaten in der Huflederhaut verantwortlich sein (WEISS et al. 1998).

FAGLIARI et al (1998) wiesen veränderte Konzentrationen von Akute-Phase-Proteinen wie Fibrinogen, Coeruloplasmin, CRP,  $\alpha_1$ -Antitrypsin,  $\alpha_2$ -Antitrypsin, Haptoglobin und saurem Glykoprotein bei einer Rehe-Erkrankung nach. Auch KALCK et al. (2009) nehmen an, dass Streptokokken neben einer Endotoxämie eine wichtige Rolle bei der Entstehung einer Hufrehe spielen.

Eine systemische Rehe zeigt im Initialstadium im Hufbeinträgerapparat die Symptome der Vasokonstriktion, eine Belastungsreihe die der Vasokompression und die traumatische Rehe die der Vasolazeration. Die Ausbildung des Rehehufes kann zu einer Rotation des Hufbeines führen. Dabei kommt es bei der systemischen Rehe nicht insgesamt zur Hufbeinsenkung, sondern bedingt durch die Rotation des Hufbeines zur Absenkung der Hufbeinspitze und zum Aufwärtstrend der Hufbeinäste sowie zum Abwärtstrend des Streckfortsatzes mit Kompression des Kronpolsters. Bei der Belastungsreihe senkt sich meistens das Hufbein insgesamt.

### 2.5.6.2 Kolik

Die Kolikerkrankung ist eine der häufigsten Ursachen für Todesfälle beim Pferd (MATYJASZEK et al. 2009). Fressen Pferde große Mengen an konzentrierten, stärkereichen Futter in kurzer Zeit, sind Fehlgärungen im Magen und Dünndarm unter Bildung von Laktat oder Gasen möglich. Das so entstehende Laktat, das über die Darmwand nicht absorbiert werden kann, führt zur pH-Wert-Senkung und Umschichtung der Flora (MEYER und COENEN 2002). Eine häufige Begleiterscheinung von Koliken ist die metabolische Azidose, die als Folge der Dehydratation auftritt (NAPPERT und JOHNSON 2002). Die kardiozirkulatorischen Veränderungen bei einer Endotoxämie führen zu einer Minderperfusion und Störung der Mikrozirkulation der Zottenspitzen. Ursache dieser Hämostase ist auch bei Pferden meist die Absorption von Endotoxinen (COLLATOS et al. 1995). Endotoxämien stellen eine folgenschwere und bedeutungsvolle Komplikation bei Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts von Pferden dar (MOORE et al. 2007). Der geringe Behandlungserfolg mit Antibiotika ist darin begründet, dass diese zwar Bakterien abtöten, jedoch die Konzentration der extrem toxischen und chemisch stabilen Endotoxine nicht verringern, die von den abgetöteten Bakterien in den Kreislauf gelangen. Spezifische, gegen die Endotoxine gerichtete Antikörper haben die Morbidität und Mortalität bei Labortieren und auch beim Menschen signifikant gesenkt (GRIMMINGER et al. 1997).

Eine mögliche Todesursache bei Kolik ist der endotoxämische Schock. Dabei gelangen bakterielle Endotoxine durch die geschädigte Darmschleimhaut ins Blut, die unter anderem eine intravaskuläre Gerinnung auslösen können (LIESE et al. 2001). Erhöhte LPS-Konzentrationen korrelieren positiv mit einer Zunahme des Hämatokrits und der Mortalität von Kolikpferden (SENIOR et al. 2011). Das klinische Bild der Endotoxämie ist u. a. durch eine erheblich gestörte Magen-Darm-Motilität gekennzeichnet. Dabei entwickeln sich Kreislaufschock, intestinale Ischämien oder Entzündungen mit nachfolgender Schädigung der Magen-Darm-Schranke. So können bakterielle Endotoxine die intestinale Mukosa passieren und kaskadenartige Entzündungsreaktionen im Wirtsorganismus auslösen.

Im weiteren Verlauf des endotoxämischen Geschehens kommt es zu Koagulationsstörungen, Leukozyten-Adhärenz und erhöhter Gefäßpermeabilität in Endstrombahnen (BUENO et al. 1999). Eine gehemmte Kontraktionsrate und -amplitude am Pony-Magen nach Vergiftung mit ausreichenden Endotoxin-Mengen beschrieben VALK et al. (1998).

Pferde benötigen für die Verdauungsvorgänge eine Vielzahl von Mikroorganismen. In der Pathogenese der Kolikerkrankungen spielen die aus einem Teil dieser Bakterien stammenden Endotoxine eine wichtige Rolle. Das Zäkum und das Kolon ascendens scheinen der Ort einer pathologischen Endotoxinabsorption zu sein. DOHERTY et al. (1999) bestimmten mit Hilfe von LAL-Tests die Endotoxinkonzentrationen bei 52 gesunden und bei 105 an Kolik erkrankten Pferden. Durch wiederholte Messungen wurde die Entwicklung der Endotoxin-Konzentration bei Kolikern im Krankheitsverlauf untersucht. Im Blutplasma aller gesunden Pferde wurden Endotoxine nachgewiesen, mit einem Mittelwert

von  $\bar{x} = 5,90$  pg/ml ( $s = 2,78$  pg/ml). Bei 90,5% der Koliker lag die Endotoxin-Konzentration in der ersten Probe nach Einlieferung in die Klinik über 10 pg/ml.

Kolikerkrankungen mit grundsätzlich hohen Endotoxinkonzentrationen konnten herausgefunden werden (Hernia foraminis omentalis, Dünndarmstrangulation durch Lipoma pendulans, Torsio coli totalis). Wenn die Konzentrationen von TNF- $\alpha$  und freiem Hämoglobin stark ansteigen, ist die Prognose ungünstig (KYAW 2008).

### 2.5.6.3 Typhlocolitis

Das Typhlocolitis-Syndrom ist seit Anfang des letzten Jahrhunderts unter dem Namen Colitis X bekannt und bereits von ROONEY et al. (1963) beschrieben worden. Akute Diarrhoen sind beim Pferd häufig mit Colitiden verbunden (WOLLANKE und GERHARDS 2006). Die Ätiopathogenese der Typhlocolitis ist nicht vollständig geklärt, weswegen sie auch als infektiöse Faktorenkrankheit bezeichnet wird (BARTMANN et al. 2004). Beim Pferd treffen drei fatale Reaktionsmuster zusammen: Die starke physiologische Besiedlung des Zäkums mit Gram-negativer, Endotoxin produzierender Keimflora, der starke Anstieg der Prostaglandinsynthese in der Darmschleimhaut, der zu einer vermehrten Chloridsekretion ins Darmlumen führt, sowie die ausgeprägte Stimulation residenter eosinophiler Granulozyten, die die diffuse Darmentzündung noch verstärken, insbesondere wenn die Schleimhautbarriere aufgehoben wurde und ein Endotoxineinstrom in die Blutbahn erfolgt (McCONNICO 2003).

Die Ursachen sind vielfältig, z. B. Salmonella spp., Clostridium spp., Neorickettsia risticii, Cyathostomum und Strongyliden (McCONNICO 2003). Oft bleiben jedoch die Ursachen einer Diarrhoe unbekannt (GROSCHKE 2000). Bei Spätdiagnose und inadäquater Therapie muss mit einer Letalitätsrate von über 70% gerechnet werden (GERBER und STRAUB 2006). Inappetenz, Apathie, Durchfall, Neutropenie und Hypoproteinämie sind die Prodromal- und Kardinalsymptome zugleich. Je nach krankmachendem Agens sind die betroffenen Patienten subfebril (Clostridiose [Exotoxin]) oder hochfebril (Salmonellose [Endotoxin] und Ehrlichiose). Der Krankheitsverlauf ist in jedem Falle von einem hypovolämisch-toxischen Schocksyndrom geprägt (JOBST 2001).

Als einziger anamnestischer Faktor mit Auswirkungen auf das Überleben erwies sich die Applikation von Antibiotika. Durch Störungen der normalen intestinalen Flora haben pathogene Erreger die Möglichkeit zur Proliferation und Toxinausschüttung. Eine geringe Überlebensrate in Zusammenhang mit einem hohen Hämatokrit ist auch in Studien über andere gastrointestinale Erkrankungen ermittelt worden. Ursachen für diese hohen Werte sind Hypovolämie, verbunden mit massivem Flüssigkeitsverlust über den Gastrointestinaltrakt, vaskuläre Effekte durch absorbierte Endotoxine oder beides. Pferde mit Diarrhoe, die eine Azotämie aufweisen und bei denen Hämokonzentration und Hypoproteinämie auftreten, haben eine schlechte Prognose (COHEN und WOODS 1999). Stresssituationen jeglicher Art, abrupte Änderungen der Futtergewohnheiten, aber auch anamnestisch unauffällige Situationen können zur Aktivierung von

Auslösemechanismen führen, die das interne Milieu der betroffenen Darmabschnitte negativ beeinflussen (BAUMS et al. 2002). Die heute bekannten Schlüsselfaktoren in der Kaskade der Ätiopathogenese der Typhlocolitis sind (ATHERON et al. 2009):

- Antibiotika (Oxytetracyclin, Gentamicin, Lincomycin, Neomycin-Sulfathiazol, Erythromycin)
- Mikroorganismen (Clostridien, Salmonellen, Ehrlichien)
- Endoparasiten (kleine Strongyliden, Cyathostomen)
- Pharmaka (Phenylbutazonpräparate)
- Toxine (Arsen, Cantharidin).

Molekular-epidemiologische Studien von STRAUB und FREY (2000) haben ein besonders hohes Vorkommen von  $\beta_2$ -toxigenen Clostridium perfringens in intestinalen Ingesta-Proben und Biopsieproben der Darmwand von Pferden mit Typhlocolitis aufgezeigt. Neben diesem  $\beta_2$ -toxigenen Clostridium perfringens wurde auch eine gewisse Häufung von Clostridium difficile-Stämmen festgestellt, welche ein wichtiger Letalfaktor sein könnte. Dies bestätigen Untersuchungen von STING (2009).

### 2.5.6.4 Fohlen-Sepsis

Die häufigste Krankheits- und Todesursache beim neugeborenen Pferd sind Infektionen (THEIN et al. 2005). Dem sogenannten „Lebensschwächesyndrom“ des neugeborenen Fohlens liegen infektiöse und nichtinfektiöse Ursachen zugrunde (SOBIRAJ et al. 1992).

Oft kommt eine Infektion mit Rhodococcus equi vor, wodurch unterschiedliche Erkrankungen wie abszedierende Bronchopneumonie, Enteritis, Polysynovitis, Osteomyelitis und Abszesse in anderen Körperregionen ausgelöst werden (LAMMER et al. 2008). Bei neugeborenen septikämischen Fohlen und bei endotoxämischen Kolikern stellte sich ein Zusammenhang zwischen TNF- $\alpha$ -Aktivität im Blutplasma und Mortalitätsrate heraus (BARTON et al. 1998).

Die neonatale Septikämie ist eine schwere Krankheit mit Superinfektion des Blutes durch toxinproduzierende Bakterien. Schwache Fohlen nach Schweregeburt, mit Nabelinfektion, Diarrhoe, Gastro-Duodenal-Ulzera, Blasenruptur und Pneumonie oder nach Kolikoperation sind potentiell gefährdet. Septikämie ist beim neugeborenen Fohlen eine häufige Todesursache. GAYLE et al. (1998) konnten die Diagnose einer Septikämie mittels einer positiven Blutkultur oder mikrobiologischen oder pathozytologischem Nachweis bakterieller Infektionen in mehr als einem Organsystem stellen. Transfundiertes equines Blutplasma versorgt das Fohlen unter anderem mit Antigenen, Komplement und Fibronektin. Diese Komponenten bewirken eine Endotoxin-Neutralisation. Nach dem gegenwärtigen Kenntnisstand fassen die Autoren Stehfähigkeit, Neutrophilenzahl, Atemfrequenz und Dauer der Erkrankung als entscheidende Überlebenskriterien zusammen (GAYLE et al. 1998).

Die sorgfältige klinische Untersuchung des Fohlens und der Mutterstute sowie die Erhebung der labormedizinischen Parameter erlauben eine frühzeitige Diagnose der Septikämie (BREWER und



KOTERBA 1988). Fehlende Kolostrumaufnahme wird allgemein als Risikofaktor einer Septikämie angesehen.

Jedoch kann auch eine ausreichende Aufnahme von IgG ( $> 8,0$  g/l) keinen absoluten Schutz vor einer Sepsis bieten. Komplikationen treten häufig auf, vor allem DIC, akutes renales Nierenversagen und septischer Schock. Die Überlebensrate der septikämischen Fohlen schwankt zwischen 10% und 70%, wobei im Durchschnitt 56% der stationär aufgenommenen Fohlen in den ersten 24 Stunden sterben (SCHUSSER 2004).

### **2.5.6.5 COPD**

Die COPD bzw. Rezidivierende Atemwegsobstruktion (RAO) ist eine weltweit bei Pferden häufig vorkommende Lungenerkrankung, die klinisch durch Husten, Leistungsinsuffizienz, angestrenzte Atmung und Nasenausfluss gekennzeichnet ist (POLIKEPAHAD et al. 2008). Auslösend ist eine Hypersensitivitätsreaktion auf Pilzsporen und andere Allergene, der genetische Hintergrund ist inzwischen belegt, wobei Umweltfaktoren das Auftreten beeinflussen. Das Risiko ist bei Nachkommen eines betroffenen Elternteils dreifach erhöht und steigt bei Pferden mit zwei betroffenen Elternteilen auf das fast Fünffache an (GERBER et al. 2008).

### **2.5.6.6 Kreislauf und DIC**

Auf die rezeptorgesteuerte Aktivierung komplexer intrazellulärer Signaltransduktionskaskaden durch unterschiedliche, z. B. infektiöse (u. a. Endotoxin) Stimuli reagieren Makrophagen und andere immunkompetente Zellen des Organismus mit einer Freisetzung verschiedener Zytokine. Die Folge ist eine Schädigung des vaskulären Endothels, dadurch können Störungen in der Mikrozirkulation und Perfusion mit dem Risiko eines Multiorganversagens entstehen (BURROWS 1981, BLANCHARD et al. 1985, DUNKLE et al. 1985, EWERT et al. 1985, MORRIS 1991, ALLEN et al. 1996, BAUER et al. 2006, CALTABIOTA et al. 2010, HUFF et al. 2010). BRIANCEAU und DIVERS (2001) beschreiben das Auftreten von akuten Thrombosen der Extremitätenarterien bei Pferden mit Sepsis und dadurch bedingten Thrombozytopenie, Hämokonentration und Azidose.

### **2.5.7 Endotoxinbestimmung**

Klinisch nutzbar, aber mit erheblichen präanalytischen Problemen belastet, ist die Endotoxinbestimmung mittels LAL-Tests, die entweder das Vorhandensein Gram-negativer Erreger

signalisiert oder das an CRP gebundenes Endotoxin nicht anzeigt (ZICKLER 2010). Eine neue Nachweismethode mittels ELISA wurde von GRALLERT et al. (2011) beschrieben.

Der Referenzbereich der Endotoxine ist mit  $< 0,125$  EU/ml definiert (FRITSCHKE et al. 2000).

## **2.6 Antioxidativer Status**

In den Organismen ist ein Gleichgewicht zwischen den prooxidativ wirkenden Substanzen und dem antioxidativen System. Wird das Gleichgewicht gestört, z. B. durch endogene oder exogene Faktoren, und überwiegen die oxidativen Prozesse, muss sich der Organismus mit dem „oxidativen Stress“ auseinandersetzen (KIRSCHVINK et al. 2008). Dieser kann seine Ursache haben in der vermehrten Bildung von Radikalen und/ oder in einem Mangel an antioxidativ wirksamen Substanzen (MILLER et al. 1993).

Mit der Aufklärung des EMS bzw. der Hyperlipidämie als Krankheiten mit einer permanenten Insulinresistenz, die durch proinflammatorische Zytokine gefördert werden, ist gleichzeitig auch die Bedeutung von Antioxidantien für deren Pathogenese sowie die Therapie in den Vordergrund gerückt (GOLDSTEIN et al. 2006, HOUSTIS et al. 2006, BELKNAP et al. 2007, VICK et al. 2007, ADAMS et al. 2009, TREIBER et al. 2009, VALLE et al. 2013, WRAY et al. 2013). UNGRU et al. (2012) fanden für das Adipokin Adiponektin eine enge Korrelation zur Insulinresistenz, während die Adipokine Leptin und RBP-4 mit dem Grad der Adipositas korrelierten.

Unter den verschiedenen Entzündungsmakern  $\text{TNF-}\alpha$ , Serum-Amyloid A, Haptoglobin, Insulin, Adiponektin, TG, Fibrinogen, IL-17, IL-4 und Interferon- $\gamma$  zeigte nur das Adiponektin als Anti-Entzündungsmarker signifikante Differenzen zwischen Ponys mit und ohne Laminitis (WRAY et al. 2013). Damit wird die Verbindung zwischen dem stoffwechselaktiven Fettgewebe sowie dem antioxidativen System dokumentiert.

### **2.6.1 Freie Radikale – oxidativer Stress**

Freie Radikale sind instabile, reaktive Teilchen mit ungepaarten Elektronen, deren Bildung für bestimmte Zellfunktionen und Abwehrreaktionen wichtig ist (Tabelle 4). Es handelt sich dabei überwiegend um reaktive Sauerstoffmetaboliten (ROS), deren freie Elektronen auf der Außenschale der Moleküle oder Atome danach streben, ein Elektronenpaar zu bilden und dadurch besonders reaktionsfähig sind (WINTER 2009). Die Bildung von freien Radikalen bringt dem Körper nicht nur Schaden, sondern auch Nutzen, denn freie Radikale haben eine wichtige Funktion im Immunsystem. In einem gesunden Organismus befindet sich ein ausreichendes körpereigenes Schutzsystem, das unter normalen Bedingungen in der Lage ist, Radikale abzufangen und sie unschädlich zu machen (MÜLLER-PEDDINGHAUS 1987).

Die Mechanismen der Entstehung von freien Radikalen sind sehr komplex und eng verbunden mit den unterschiedlichsten biochemischen Reaktionen (ROTH et al. 1998). Chemisch gesehen sind Sauerstoffradikale hochreaktive Stoffe, die entweder im Körper durch endogene oder exogene Ursachen entstehen. Die exogene Bildung erfolgt z. B. durch Einwirkung von UV-Licht, Kern- und Röntgenstrahlen, Halogenen, Ozonzerfall und Medikamenten (LYKKESFELDT und SVENDSEN 2007).

Endogen entstehen Radikale hauptsächlich in Endothelzellen, polymorphkernigen Leukozyten, Monozyten und Makrophagen (MÜLLER-PEDDINGHAUS 1987). Ein Zuviel an Bildung von Sauerstoffradikalen ist für den Körper schädlich. Es entsteht oxidativer Stress durch freie Radikale.

Dabei haben Jungtiere vor allem in den ersten Lebenswochen sowie peripartale Muttertiere ein erheblich höheres Risiko, einen oxidativen Stress zu erleiden. Andere Risikofaktoren sind Mangelernährung oder Hitzestress (LOCHER et al. 2011).

**Tabelle 4:** *Reaktive Sauerstoffspezies, die Bedeutung für den oxidativen Stress haben (SIES 1986)*

Spezies	Name	Bemerkung
$O_2^-$	Superoxid-Anion-Radikal	Bei vielen Autooxidationsreaktionen gebildet, durch Superoxid-Dismutase inaktiviert
$HOO^+$	Hydroperoxid-Radikal	Protonierte Form von $O_2$ , besser lipidlöslich als $O_2$
$H_2O_2$	Wasserstoffperoxid	Zersetzt durch Katalase
$HO^•$	Hydroxyl-Radikal	Über die Fenton-Reaktion oder die Metall (Eisen)-katalysierte Haber-Weiss-Reaktion gebildet, sehr reaktiv, $t_{1/2}=10^{-9}$ s, initiiert Lipidperoxidation
$RO^•$	Alkoxy-Radikal	Organisches (z. B. Lipid-) Radikal, $t_{1/2}=10^{-6}$ s
$ROO^•$	Peroxid-Radikal	Aus organischem Hydroperoxid $ROOH$ (z. B. Lipid-Hydroperoxid) gebildet, $t_{1/2}= 7$ s
$^1O_2^-$	Singulett-Sauerstoff	Elektronisch angeregter Zustand von Sauerstoff, daher sehr reaktionsfähig, $t_{1/2}=10^{-5}$ s
$NO^•$	Stickstoffmonoxid- Radikal	Gebildet von NO-Synthase, $t_{1/2}$ : 1-10 s
$ONOO^•$	Peroxynitrit	Gebildet aus NO und $O_2^-$ , $t_{1/2}$ : 0,05-1 s

Das Hydroxyradikal  $OH^•$  ist hochreaktiv gegenüber Zellen und Gewebe (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1990). Es stellt das reaktivste Sauerstoffradikal dar, für das es keine spezifische enzymatische Inaktivierung gibt (OHLENSCHLÄGER 1995).  $H_2O_2$  und  $O_2^-$  sind wesentlich reaktionsträger, sie werden jedoch vielfach als Auslöser für die Bildung anderer hochreaktiver Sauerstoffradikale angesehen. Das NO besitzt eine hohe Reaktivität gegenüber Sauerstoffradikalen, dabei entsteht u. a. das noch reaktivere Peroxynitrit.

Die Radikale führen zu strukturellen Schäden an einer Vielzahl von Verbindungen, z. B. an der DNA, Proteinen, Kohlenhydraten und Lipiden. Radikale entstehen in der Atmungskette der Mitochondrien sowie bei vielen anderen enzymatischen Umsetzungen und im Verlauf der Phagozytose (Tabelle 5). Die Gewebsschädigung der freien Radikale entsteht durch die Lipidperoxidation von ungesättigten Fettsäuren in Zellmembranen, von Sulfhydrylbindungen in Proteinen und von Nukleotiden in der Ribonukleinsäure (LYKKESFELDT und SVENDSEN 2007). Unter bestimmten Bedingungen, wie der lokalen Ischämie mit nachfolgender Reperfusion, kann die Bildung von Sauerstoffradikalen deutlich erhöht sein (BRÖMME et al. 2002).

In der Humanmedizin finden intensive Forschungen zum oxidativen Stress statt. Dieser stellt ein großes Problem dar, z. B. in der Transplantationsmedizin, in der Chirurgie (GRACE 1994), Neurologie (WINNEFELD 1996), in der Kardiologie und Traumatologie sowie in der Rheumatologie und Onkologie.

**Tabelle 5:** Endogene und exogene Faktoren, die oxidativen Stress verursachen (nach BEHL und HARTL 2007)

<b>Endogene Ursachen</b>	Mangelernährung
	Stress (physisch und psychisch), operative Eingriffe
	Erkrankungen mit Entzündungsreaktionen, Ischämie, Hypoxie, Schock, Sepsis, SIRS
	Hyperglykämie, Hypercholesterolämie
	Infarkt, Fibromyalgie, COPD
	Hämochromatose, Hyperhomocysteinämie
	Chronische Niereninsuffizienz/ Dialyse
	Morbus Wilson, Morbus Alzheimer, genetische Defekte
<b>Exogene Ursachen</b>	UV- und ionisierende Strahlung
	Umweltbelastung (z. B. Ozon, Stickoxide, Schwermetalle)
	Nikotin- und Alkoholkonsum
	Arzneimittel (Zytostatika, Antibiotika, usw.)

Die Tiermedizin befasst sich immer stärker mit dem Problem, z. B. bei Pferden mit intestinalen Reperfusionsschäden (MOORE 1997).

Bei vielen Erkrankungen des Pferdes ist das empfindliche Gleichgewicht zwischen Oxidantien und Antioxidantien gestört, z. B. bei Neuropathien wie Grass Sickness, Motoneurondisease oder der degenerativen Myeloenzephalopathie. Durch Mangel an Vitamin E und Selen kommt es zu weiteren Erkrankungsformen wie der Weißmuskelkrankheit beim Fohlen, der Polymyositis oder der

Muskeldystrophie (KIRSCHVINK et al. 2008). Signifikant erniedrigte Vitamin-C-Spiegel und damit eine verminderte pulmonale antioxidative Kapazität entdeckten DEATON et al. (2005) bei Pferden mit COPD.

### 2.6.2 Antioxidantien

Die ROS kommen im lebenden Organismus unter physiologischen und pathologischen Bedingungen vor. Dem gegenüber steht ein System aus enzymatischen und nicht-enzymatischen Antioxidantien (LOCHER et al. 2011). Antioxidantien sind organische Verbindungen von sehr unterschiedlichem Bau (Tabelle 6), die unerwünschte Oxidation von Stoffen hemmen oder verhindern (SCHÜTT 1999). Der veränderte Radikalmetabolismus ist beim septischen Patienten messbar mittels einem Abfall von  $\alpha$ -Tocopherol, Ascorbinsäure, Retinol und  $\beta$ -Carotin im Blutplasma (ROTH et al. 1998). Hierbei werden reaktive Moleküle oxidiert und damit reaktionsträger (LYKKESFELDT und SVENDSEN 2007).

Ein wichtiges Enzym für die Entgiftung von reaktiven Sauerstoffmetaboliten ist die **Superoxid-Dismutase** (SOD). Dieses Enzym katalysiert die Umsetzung von Superoxidradikalanionen zu molekularem Sauerstoff und Wasserstoffperoxid, der wiederum von der GPX abgebaut wird (OTSU et al. 2004). Sie schützt die wasserlöslichen Zellkompartimente vor freien Radikalen (LIOCHEV und FRIDOVICH 2001). Die SOD ist also in der Lage, das Superoxid-Anion abzufangen. Interessanterweise konnte GUO (1993) bei schwangeren Frauen eine signifikant höhere SOD-Aktivität nachweisen.

Die **Glutathion-Peroxidase** (GPX) ist ein wichtiger endogener Faktor zur Entgiftung von Wasserstoffperoxid sowie zur Regeneration der Antioxidantien Ascorbinsäure und  $\alpha$ -Tocopherol. Es handelt sich hierbei um eine selenhaltige und -abhängige Oxidoreduktase, die Wasserstoffperoxid mittels der Oxidation von reduziertem Glutathion zu Wasser und oxidiertem Glutathion entgiftet (DE MOFFARTS et al. 2005). Die GPX gilt als genereller intrazellulärer Schutz vor Membranschädigung durch Lipidperoxidation (MÜLLER-PEDDINGHAUS 1987). Ein Mangel verringert die Zellteilungsrate. Verschiedene Schutzmechanismen können die Oxidationsreaktionen verhindern. Als intrazelluläres Antioxidans verhindert die GPX die Weiterreaktion des Wasserstoffperoxids zu dem hochreaktiven Hydroxylradikal. Bei langen und schweren Erkrankungen sinken die Aktivitäten der SOD und der GPX ab (MACCIÒ et al. 2005).

**Selen** ist als essentielles Spurenelement wichtig für die Aktivität der Selenoproteine der GPX. Eine Selensupplementierung kann die GPX-Aktivität signifikant steigern (MAXWELL 1995). Selen geht außerdem einen Oxidations-Reduktions-Zyklus ein und hat damit eine katalytische Funktion (FLOHÉ 1997).

Die GPX-Aktivität in den Erythrozyten wird als Indikator für die Selenversorgung eingesetzt (MÜLLER et al. 2001). Untersuchungen von LÖFSTEDT (1997) ergaben, dass die in den ersten Lebensstagen auftretende Weißmuskelerkrankung des Fohlens auf eine ungenügende Zufuhr von Vitamin E und Selen, begleitet von einem Mangel an ungesättigten Fettsäuren, zurückzuführen ist.

Weiterhin ist Selen an der Regulation des Glukosestoffwechsels beteiligt und kann bestimmte Wirkungen des Insulins imitieren. Ein Vitamin-E-Mangel erhöht den Selenbedarf (VON RAUCHHAUPT 2006).

**Tabelle 6:** Antioxidantien in biologischen Systemen (nach SIES 1986; HALLIWELL und GUTTERIDGE 1990)

Antioxidans		Bemerkung
Nicht-enzymatisch	$\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E)	Membranständig (Lipidphase), unterbricht Kettenreaktion der Lipidperoxidation, in Wechselwirkung mit Ascorbat und GSH
	Ascorbinsäure (Vitamin C)	Wasserlöslich, v. a. extrazellulär, zur Regeneration der lipophilen Antioxidantien nötig
	Flavonoide	Pflanzliche Antioxidantien z. B. Rutin, Quercetin
	$\beta$ -Carotin	Singulett-Sauerstoff-Fänger, lipophil
	Ubichinon Q <sub>10</sub>	Lipophil, u. a. Radikalfänger
	Harnsäure	Hemmt die Lipidperoxidation, Radikal- und Singulett-Sauerstoff-Fänger
	GSH	Tripeptid mit Sulfhydrylgruppe, 2 GSH oxidieren zu GSSG, reagiert mit H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> und organischen Peroxiden, Substrat der GPX
	Plasmaproteine	Albumin, Ceruplasmin, Haptoglobin, Transferrin
	Bilirubin	
	Glucose	
Enzymatisch	SOD	Cu-, Zn-, Mn-, Fe-Enzyme, wandelt O <sub>2</sub> <sup>-</sup> in H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> und O <sub>2</sub> um
	GPX	Selenoenzym, katalysiert Reaktion von GSH mit Peroxiden
	Katalase	Hämenzym, katalysiert Dismutierung von H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> zu H <sub>2</sub> O und O <sub>2</sub>
	Peroxidasen	

**Zink** ist für den Stoffwechsel von Haut und Schleimhäuten, besonders in der Wundheilung, bedeutend. Zink ist Bestandteil und Aktivator vieler Enzyme, insbesondere der SOD, Co-Faktor bei der T-Zelldifferenzierung und anderen Immunfunktionen und essentiell für die Insulinspeicherung in den Granula der  $\beta$ -Zellen des Pankreas.

Zink-Thionin schützt gegen die Wirkung toxischer Schwermetalle. KLECZKOWSKI et al. (2003) stellten fest, dass die Enzymaktivität der SOD bei Kupfer- und Zinkmangel niedriger ist.

Die **Katalase** befindet sich in den Peroxisomen und induziert wie die GPX den Abbau von Wasserstoffperoxid zu Wasser und Sauerstoff (MÜLLER et al. 2001).

Zahlreiche Enzymsysteme sind abhängig vom **Vitamin C**, das eine der wirksamsten wasserlöslichen antioxidativen Substanzen darstellt und besonders für die extrazellulären Körperkompartimente von Bedeutung ist (UJEYL 2002). Es gehört zu den kettenbrechenden Antioxidantien und zerstört und neutralisiert Radikale (CHEN et al. 2000). Es sorgt u. a. für die Regeneration des Vitamin E (WAGNER et al. 1996) und hilft bei der Eliminierung von Peroxidradikalen, Superoxidradikalanionen und Hydroxylradikalen. Es spielt eine wesentliche Rolle als Zellstoffwechselaktivator und für den Schutz vor Infektionen. Weiterhin stellt es einen der wichtigsten Anti-Stress-Nährstoffe dar und wird vom Körper belastungsabhängig verbraucht. Dieses Vitamin wird oft unterschätzt, es hilft bei z. B. Zellschutz, Bindegewebeaufbau, fördert Knorpelbildung, senkt bei Allergien den Histamingehalt im Blut, aktiviert die Hormone, entgiftet, fördert die Eisenaufnahme aus der Nahrung und unterstützt die Wundheilung (KÖRNER 2007). ATKIN et al. (2005) weist auf den Schutz des Vitamin C vor Lipidoxidation hin.

Vitamin C wird beim Pferd in ausreichender Menge im Darm synthetisiert. Dennoch konnten WHITE et al (2001) bei Untersuchungen an Galopprennpferden nachweisen, dass die zusätzliche Gabe von Ascorbat die Auswirkungen des durch körperliche Arbeit ausgeübten oxidativen Stresses aufhebt, jedoch einer Muskelschädigung nicht vorbeugen kann.

Pferde mit COPD wiesen einen signifikant erniedrigten Vitamin-C-Spiegel und damit eine verminderte pulmonale antioxidative Kapazität auf (DEATON et al. 2005).

Die **Carotinoide**  $\beta$ -Carotin und Lycopin fangen vor allem den reaktiven Singulett-Sauerstoff ab. Daraus wird Vitamin A synthetisiert, welches im biologischen System nukleäre Effekte, antikanzerogene und antioxidative Funktionen hat sowie biologische Membranen und das Immunsystem beeinflusst (GÜCK 1998). Überschüssiges Vitamin A wird in der Leber gespeichert und kann dort als Reserve drei Monate lang abgerufen werden. Vitamin A ist für die Haut, das Hornwachstum und die Fruchtbarkeit sehr wichtig. Bei Mangel wird die Infektionsbereitschaft erhöht (TWINING et al. 1997). Erst bei anhaltender Hypovitaminose A kommt es zu einer Beeinträchtigung der Sehfähigkeit. Dauerhafte Überversorgung kann zu erhöhter Knochenbrüchigkeit führen (KRONFELD et al. 1990) sowie sogar kanzerogen wirken (OTTO 2009).

Das **Vitamin E** schützt als guter Radikalfänger besonders die Lipoproteine und Zellmembranen vor Oxidation, reduziert die Thrombozytenaggregation, steigert die humorale und zellvermittelte Immunität und wirkt positiv auf das Endothel (HIGGINS et al. 2008).

Vitamin E wird als lipophiles Antioxidans in den Lipoproteinen transportiert und schützt deswegen die LDL besonders effektiv vor Oxidation (GOSSLAU und RENSING 2002). Dem Vitamin E werden Funktionen bei Beeinflussung der Karzinogenese und bei der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen zugeordnet (GÜCK 1998).

Vitamin E-Mangel äußert sich in Muskelstörungen ähnlich wie bei Selenmangel (FREISMUTH 2004). Eine schlechte Vitamin-E-Versorgung bei an einer Equinen Motor Neuron Disease erkrankten Pferden ist nicht nur auf eine mangelnde Aufnahme, sondern vermutlich auch auf eine veränderte Bioverfügbarkeit oder

übermäßigen Verbrauch zurückzuführen (McGORUM et al. 2006). Andererseits wirkt sich eine Überversorgung mit Vitamin E nicht positiv auf den antioxidativen Status aus, sondern hat einen eher negativen Einfluss auf die Serum-  $\beta$ -Carotin-Konzentration (WILLIAMS und CARLUCCI 2006).

Die wasserlösliche **Harnsäure** (Urat) liefert den Hauptanteil der antioxidativen Gesamtkapazität des Blutes und stabilisiert Vitamin C im Blutplasma (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1990). Darüber hinaus bildet Harnsäure Chelate mit Metallionen, wie Eisen oder Kupfer, und verringert so die durch diese Ionen katalysierten Reaktionen freier Radikale (RINK 2005). Sich wiederholende körperliche Belastung im Sinne von Training fördert das antioxidative System nachweislich, so steigen Vitamin C und Harnsäure als nichtenzymatische, aber auch GPX und SOD als enzymatische Komponenten bei regelmäßigem Training an (KIRSCHVINK et al. 2008).

Das in biologischen Systemen ubiquitär vorkommende **Co-Enzym Q<sub>10</sub>** (Ubichinon) ist ein Chinonderivat mit einer bei Säugern aus 10 Isoprenoideinheiten bestehenden Kette, welches hauptsächlich in der Leber synthetisiert und an LDL gebunden transportiert wird (WEBER 2009). Das Co-Enzym Q<sub>10</sub> ist essentieller Bestandteil der Atmungskette in Mitochondrien, hält als stark lipophile Substanz die Zellmembranen funktionsfähig und schützt die Zellen vor Schädigung durch Oxidation (RINK 2005). Jede Zelle benötigt zum Überleben Co-Enzym Q<sub>10</sub> (WEBER 2009). In einer Studie an gesunden Pferden konnten BOHAR TOPOLOVEC et al. (2013) keine signifikante Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen von TEAC und Q<sub>10</sub> nachweisen.

Ein Mangel an antioxidativ wirkenden Substanzen kann langfristig zu Gewebeschädigungen und infolge der negativen Beeinflussung des Immunstatus zu einem höheren Infektionsrisiko führen. Betroffen von den im Körper ablaufenden Oxidationsprozessen sind der Protein- und Energiestoffwechsel, die Reaktivität des Immunsystems sowie die Funktionen der Zell- und Mitochondrienmembranen. Schäden dieser Membranen können genetische Veränderungen und damit weitreichende Schäden im Gesamtorganismus einschließlich der Fortpflanzungsmöglichkeiten nach sich ziehen (GRAMZOW 2001).

### **2.6.3 Antioxidative Kapazität**

Die Protektion gegen freie Radikale bzw. oxidativen Stress besteht aus nichtenzymatischen Abfängern („Scavenger“), den im engeren Sinn gemeinten Antioxidantien, sowie aus enzymatischen Systemen, wie der Katalase und der SOD, die ausschließlich für die Umsetzung von reaktiven Sauerstoffspezies gebildet werden, und der GPX, die auch z. B. Fettsäurehydroperoxide reduzieren kann (Tabelle 7). Beide Systeme ergänzen sich gegenseitig (HALLIWELL 1996).



Die Messung der antioxidativen Kapazität des Blutplasmas liefert Informationen zum oxidativen-antioxidativen Gleichgewicht, dessen Störung ein Auslöser für die Oxidation von LDL sein könnte.

**Tabelle 7:** *Körpereigene Schutzsysteme sowie Antioxidantien gegen freie Radikale und oxidativen Stress im Blutplasma (MÜLLER et al. 2001)*

<b>Schutzenzyme</b>	SOD
	GPX
	Katalase
<b>Schutz in der wässrigen Phase ACW</b>	Vitamin C
	Bilirubin
	Harnsäure
	Coeruloplasmin
<b>Schutz in der Lipidphase ACL</b>	β-Carotin
	Vitamin E
	Coenzym Q <sub>10</sub> (Ubichinon)

Die Bestimmung der antioxidativen Kapazität mit der TRAP-Methode liefert Informationen über den Gehalt an Antioxidantien im Blutplasma, die eine radikalische Kettenreaktion beenden können, ohne dass diese einzeln gemessen werden müssen. Bisher noch nicht identifizierte Antioxidantien werden mit erfasst, und das Zusammenspiel verschiedener Antioxidantien wird berücksichtigt (WAYNER et al. 1985). Die TRAP-Methode gibt an, wie viele Radikale durch Blutplasma abgefangen werden können, bzw. kann durch Vergleich mit der Trolox-Wirkung geeicht werden. Durch den spontanen Zerfall eines Azoradikalbildners werden in Gegenwart von Sauerstoff kettenreaktionauslösende Peroxylradikale erzeugt. Freie Radikale können in einem Photonenzähler durch Luminol vermittelte Chemilumineszenz (LEC) gemessen werden (DALFERTH 2000).

Für die Bestimmung der antioxidativen Kapazität eines Organismus ist zwischen den fettlöslichen (ACL) und den wasserlöslichen Antioxidantien (ACW) zu unterscheiden. POPOV und LEWIN (1996) beschrieben die Möglichkeit, mittels Photochemilumineszenz die fettlöslichen Antioxidantien aus der Gesamtkapazität des Organismus separat darzustellen.

#### 2.6.4 *Bestimmung des antioxidativen Status mittels TEAC*

Die TEAC wird zur Messung der Gesamtkapazität antioxidativer Stoffe herangezogen. Die so genannte „totale antioxidative Kapazität“ setzt sich sowohl aus wasser- als auch aus fettlöslichen Anteilen zusammen (DÜBELER 2006). Mittels der TEAC-Methode nach MILLER et al. (1996) lässt sich die antioxidative Kapazität in wässrigen Lösungen (ACW) mit dem BECKMAN-Photometer bestimmen. Bei Stabilitätsuntersuchungen bis 24 Stunden nach der Blutentnahme erwies sich die TEAC-Konzentration bei Zimmertemperatur als weitgehend stabil (WINTER 2008). Sie untersuchte weiterhin bei Warmblutpferden den Einfluss verschiedener Ergänzungsfuttermittel auf den antioxidativen Status (TEAC, ACW, GPX und SOD). Innerhalb von 9 Tagen konnte sie keine signifikanten Differenzen feststellen. Die Konzentrationen der TEAC bewegten sich im Bereich von 230 bis 288  $\mu\text{mol/l}$  (I. bis III. Quartil), die der ACW von 48 bis 208  $\mu\text{mol/l}$  (I. bis III. Quartil). Die Aktivitäten der GPX schwankten zwischen 62 bis 203 U/g Hb (I. bis III. Quartil), die der SOD zwischen 2800 bis 6764 U/g Hb (I. bis III. Quartil).

Erkrankungen können über eine starke Belastung des antioxidativen Systems zu niedrigen Konzentrationen der TEAC führen (DINGES 2004). Interessant sind die positiven Korrelationen der ALA-AK-Titer mit der TEAC in der Kontrollgruppe sowie bei Kühen mit Fruchtbarkeitsstörungen und Endometritiden.

LPS und die von ihm induzierten Zytokine regen Makrophagen und andere Zellen zur Bildung freier Sauerstoffradikale an (KRÜGER und RÖPKE 1998). Die bei den krankhaften Prozessen vermehrten freien Radikale bedingen einen höheren Verbrauch an Antioxidantien. Der bereits bei anderen Untersuchungen (FÜRLLE et al. 2001) festgestellte postpartale Anstieg ist durch die steigende Futteraufnahme sowie durch die gesteigerte Freisetzung von  $\alpha$ -Tocopherol aus der Leber zu erklären. Tendenziell waren die Konzentrationen bei gesunden Kühen ante partum am niedrigsten und stiegen post partum kontinuierlich an.

Im Laktationsverlauf bestand ein steigender Konzentrationstrend (GOERRES und FÜRLLE 2002). DINGES (2004) beschreibt für die TEAC ein individuelles Level, welches abhängig ist von Fütterung, Jahreszeit, Individuum und Geschlecht. Der Referenzbereich wird von MILLER et al. (1996) mit 180 bis 340  $\text{mmol/l}$  definiert.

### **3 TIERE, MATERIAL UND METHODEN**

Die Untersuchungen erfolgten unter nachfolgend näher erläuterten Bedingungen.

#### **3.1 Tiere**

Für die vorliegende Arbeit wurden die in der Tabelle 8 charakterisierten reinrassigen Shetlandpony-Stuten untersucht. Für alle Stuten lagen die Equidenpässe mit vollständigen Abstammungsnachweisen und den Eintragungsvermerken in das Stut- bzw. Hauptstutbuch des Pferdezuchtverbands Sachsen-Thüringen e. V. als aktive Zuchtstuten vor.

Für die vorliegenden Untersuchungen wurden diese 15 gesunden, normal gewichtigen Shetlandpony-Stuten aus 2 Beständen mit annähernd gleichen Haltungsbedingungen im Verlauf von 2 Jahren während der Trächtigkeit, des Abfohlens und der Laktation klinisch und labordiagnostisch überwacht und die Befunde der Serumproben statistisch ausgewertet. Alle Stuten führten zu Beginn der Untersuchung kein Fohlen bei Fuß. Zur Einschätzung des Ernährungszustands wurde der BCS nach KIENZLE und SCHRAMME (2004) zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung ermittelt. Dazu dienten die 6 Körperregionen (Hals, Schulter, Rücken, Brust, Hüfte und Schweifansatz), die einzeln auf einer Skala von 1 bis 9 in ihrer Fett- bzw. Muskelverteilung bewertet und daraus der Durchschnitt errechnet worden ist (Tabelle 8).

Vor jeder Blutprobenentnahme wurde eine vollständige klinische Allgemeinuntersuchung durchgeführt. Die Stuten waren ruhig und aufmerksam bei ungestörtem Allgemeinbefinden. Die innere Körpertemperatur befand sich im physiologischen Bereich zwischen 37° und 38°C. Zur Auswertung kamen die Stuten, die über den gesamten Untersuchungszeitraum klinisch gesund waren. Alle Stuten verfügten über eine gute Zuchtkondition und wiesen einen ähnlichen guten Fütterungszustand auf. Die Stuten waren zum Zeitpunkt der ersten Blutprobenentnahme zwischen 5 und 16 Jahre alt und wurden einer natürlichen Bedeckung zugeführt.

Die Stuten 1 bis 7 sowie 8 bis 15 stammten jeweils aus einer Population. Allerdings wurde die Population der 1. Gruppe erst anlässlich dieser Untersuchung zusammengestellt, d. h., sie unterlagen erst ab dem Zeitpunkt der Bedeckung gleichen Haltungsbedingungen. Der Standort der 1. Gruppe war in der Nähe von Leipzig, die 2. Gruppe war in der Gegend um Luckau beheimatet. Allen Stuten gemeinsam war die Koppelhaltung mit Grasaufnahme ad libidum von Frühjahr bis Herbst bzw. im Winter die Heu-, Stroh- und Haferfütterung. Fütterungsbedingte Unterschiede aufgrund regionaler Besonderheiten in Zusammensetzung und Qualität der Nahrungsmittel konnten jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Zur statistischen Auswertung wurden alle Stuten 1 bis 15 herangezogen, da sie einen physiologischen Verlauf von Gravidität, Partus und Laktation hatten.

**Tabelle 8:** *Namen, Alter, Anzahl der Abfohlungen und BCS (nach KIENZLE und SCHRAMME 2004) der untersuchten Shetlandpony-Stuten*

Nummer	Name	Geburtsjahr	Anzahl der Fohlen	BCS
1	Betty	1985	3	5
2	Dorle	1988	4	5
3	Puppe	1996	2	5,5
4	Lissy	1990	0	5
5	Pia	1989	6	5
6	Grandel	1997	1	6
7	Trixi	1997	0	6
8	Uta	1988	5	6
9	Ulrike	1998	0	5,5
10	Uschi I	1992	4	6
11	Uschi II	1994	2	6
12	Ursel	1998	0	5,5
13	Ulla	1991	7	6
14	Ungarin	1993	2	6
15	Uganda	1996	2	5,5

### 3.2 Probenentnahme und Aufbereitung

Die Proben von den Stuten Nr. 1 bis 15 wurden nach dem folgenden Schema entnommen:

- Probe: ca. vier bis acht Wochen post conceptionem (Stuten ohne Fohlen)
- Probe: unmittelbar, d. h. bis maximal 24 Stunden ante partum
- Probe: unmittelbar, d. h. bis maximal vier Stunden post partum
- Probe: 12–16 Stunden post partum
- Probe: drei Wochen post partum.

Das Blut wurde aus der linken Vena jugularis externa mittels steriler Einmalkanüle nach vorangegangener Rasur und Desinfektion entnommen. Es wurden bei jeder Probenentnahme ein 4 ml K-EDTA-Röhrchen der Firma SARSTEDT AG & Co., Nürnberg, sowie zwei 10 ml Serumröhrchen der Firma SARSTEDT AG & Co., Nürnberg, verwendet. Um die Probe Nr. 2 zu erhalten, wurden die Stuten im geburtsnahen Zeitpunkt täglich zur Blutentnahme herangezogen und die Proben gegebenenfalls verworfen.

Das Abfohlen selbst wurde gründlich, d. h. auch mehrmals nachts, überwacht, um sofort nach Geburt und Erstversorgung des Fohlens mit Paramunitätsinducer, Nabeldesinfektion und Klistier die Proben zu gewinnen.

Die Proben wurden zur weiteren Verarbeitung schnellstmöglich gekühlt in das Labor der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig transportiert.

Anhand der K-EDTA-Proben erfolgte die Bestimmung der Gesamt-Leukozytenzahl im Zellcounter der Firma MÖLAB GmbH, Berlin, am Tag der Gewinnung.

Die Serumröhrchen wurden mit 1350 g zehn Minuten lang bei 4°C zentrifugiert (Centrifuge 5403, Firma EPPENDORF Deutschland AG, Hamburg), anschließend in jeweils sechs EPPENDORF-Gefäße zu jeweils 1 ml portioniert und sofort bei -18°C tiefgefroren. Die EPPENDORF-Gefäße wurden zur eindeutigen Identifizierung mit Entnahmedatum und Proben-Nummer mittels farbfestem Stift, Firma EDDING AG, Ahrensburg, beschriftet.

### **3.3 Untersuchung der Blutproben**

Die insgesamt 75 Blutproben wurden nach den folgenden standardisierten und international anerkannten Methoden untersucht (Tabelle 9).

#### **3.3.1 Stoffwechselparameter**

Die Parameter wurden am klinisch-chemischen Analysegerät HITACHI 912 (ROCHE Diagnostics GmbH, Mannheim) im Labor der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig in den Serumproben ermittelt (Tabelle 9).

#### **3.3.2 Leukozyten**

Die Gesamt-Leukozytenzahl wurden im K-EDTA-Blut mittels Zellcounter (Zellzähler, Firma MÖLAB GmbH, Berlin) in der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig ermittelt. Dabei wurden Doppelbestimmungen durchgeführt und der Mittelwert ermittelt.

**Tabelle 9:** Analysierte klinisch-chemischen Parameter im Serum von Ponys, deren Bestimmungsmethoden und dafür verwendete Geräte sowie Referenzbereiche der Parameter (Medizinische Tierklinik Leipzig)

	Para- meter	Maß- einheit	Gerät	Methode		VKS %	VKT %	Referenz- bereich
Fettstoff- wechsel	TG	mmol/l	Hitachi 912	GOP-PAP-Methode	1			0,44-0,60 <sup>a</sup>
	CHOL	mmol/l		CHOD-PAP-Methode		1,8	2,8	1,4-3,5 <sup>a</sup>
	FFS	µmol/l		Kinetischer UV-Test	2	1,3	4,2	300-500 <sup>b</sup>
	BHB	mmol/l		UV-Methode				0,18-0,22 <sup>b</sup>
Leber- stoff- wechsel	BILI	µmol/l		nach Jendrassik und Groff	2	2,5	3,3	5,5-22,3 <sup>a</sup>
	ASAT	U/l		Optimierte Standardmethode der DGKC	1	1,0	2,0	228-506 <sup>a</sup>
	GLDH	U/l		UV-Test; optimierte Standard- methode der DGKC		1,9	2,3	1,9-33,3 <sup>a</sup>
	GGT	U/l		Methode nach Szasz		0,91	3,37	12,8-66,1 <sup>a</sup>
	GLUC	mmol/l		Hexokinase-Methode				4,6-6,3 <sup>b</sup>
	AP	U/l		p-Nitrophenylphosphat	2*	0,64	1,66	96-370 <sup>a</sup>
Protein- und Muskel- stoff- wechsel	TP	g/l		Biuret-Methode	1	1,1	1,9	67,3-75,3 <sup>a</sup>
	ALB	g/l		mit Bromcresolgrün		1,2	2,2	23,3-37,7 <sup>a</sup>
	HST	mmol/l		kinetischer UV-Test		2,8	3,5	3,9-9,2 <sup>a</sup>
	CREA	µmol/l		Methode nach Jaffe		2,07	3,57	44-122 <sup>a</sup>
	CK	U/l		NAC-aktivierte, optimierte Standard-Methode der DGKC		0,49	1,64	168-880 <sup>a</sup>
Endotoxin	ET	EU/ml		modifizierter Limulus-Test: Fritsche et al. 2000	3	8,8	11,8	< 0,125 <sup>c</sup>
TEAC	TEAC	mmol/l	DU 640B	Trolox Equivalent of Antioxidative Capacity Miller et al. 1996	4	3,8	6,4	180-340 <sup>d</sup>

1 = Firma BOEHRINGER Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim am Rhein

2 = Firma RANDOX Laboratories Ltd. Crumlin, Großbritannien

2\* = NAC aktivierte optimierte Standardmethode der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie

3 = Firma BioWhittaker, Walkersville, USA

4 = Firma BECKMAN, Krefeld

VKS % = Präzisionskontrollen in der Serie in %

VKT % = Präzisionskontrollen von Tag zu Tag in %

<sup>a</sup> = GIESELER 2012

<sup>b</sup> = FÜRLL und FIEDLER 1992

<sup>c</sup> = FRITSCHKE et al. 2000

<sup>d</sup> = MILLER et al. 1996

### 3.3.3 *Endotoxine*

Die Konzentrationsbestimmung an Endotoxinen der Proben erfolgte im Labor der BioCheck GmbH, 04288 Leipzig-Holzhausen, Mölkauer Straße 88. Zum Nachweis von freiem Endotoxin wurde der kommerziell angebotene LAL-Test QCL-1000 der Firma BioWhittaker, Walkersville, USA, ein anerkannter Test, genutzt (Tabelle 9). Dieses Testsystem beruht auf der Reaktion von freiem Endotoxin mit den Amöbozyten (Blutkörperchen) des Pfeilschwanzkrebses *Limulus polyphemus*. Die Hämolymphe dieser Tiere dient zur Herstellung des Reagenz. Die gesammelten Serumproben wurden tiefgefroren gemeinsam zu einem Termin transportiert und gleichzeitig untersucht. Somit konnte ein einheitliches Handling beim LAL-Test gewährleistet werden. Dabei wurde der Nachteil in Kauf genommen, dass die unterschiedlich lange Lagerzeit Einfluss auf die Endotoxin-Konzentration haben könnte.

Die Durchführung erfolgte gemäß der Angaben des Herstellers des LAL-Tests QCL-1000, der Firma BioWhittaker, Walkersville, USA:

- Auftauen der Serumproben
- Verdünnung der Serumproben 1:10 mit endotoxinfreiem Wasser (Firma B. BRAUN Melsungen AG, Melsungen) in pyrogenfreien Verdünnungsröhrchen der Firma BioWhittaker, Walkersville, USA
- Vortexen
- Inkubation 5 Minuten bei 70°C im Wasserbad
- Abkühlen der Serumproben auf Raumtemperatur
- Überpipetten von je 50 µl auf sterile 96er Flachboden-Mikrotiterplatten der Firma GREINER Holding AG, Nürtingen
- Erstellung einer Eichkurve bzw. -geraden durch Auftragen der mitgelieferten Endotoxin-Standards (*E. coli* O111) in den Verdünnungsstufen 0,1; 0,05; 0,025; 0,012 und 0,005 EU/ml (1 EU = 100 pg ET) auf die Flachboden-Mikrotiterplatten
- Unter Einbeziehung der Probenverdünnung von 1:10 beträgt die Nachweisgrenze für freies Endotoxin 0,125 EU/ml Serum
- Zugabe von 50 µl LAL-Lysat zu den Proben und dem Standard, Inkubation 10 Minuten bei 37°C
- Einpipettieren von 100 µl Substrat je Kavität, Inkubation 6 Minuten bei 37°C
- Beendigung der Reaktion durch Zugabe von 50 µl 25%iger Essigsäure
- Extinktionsbestimmung der Proben bei 405 nm im Reader ANTHOS HAT III (Firma ANTHOS, Köln)
- Auswertung der optischen Dichte (optical density = OD) mittels KIN Star Photometer Software (Firma WEOAH-MED GbR, Berlin)
- Bei Extinktionswert > 1 EU/ml, weitere Verdünnung der Probe auf 1:100 bzw. 1:1000 und erneute Bestimmung.

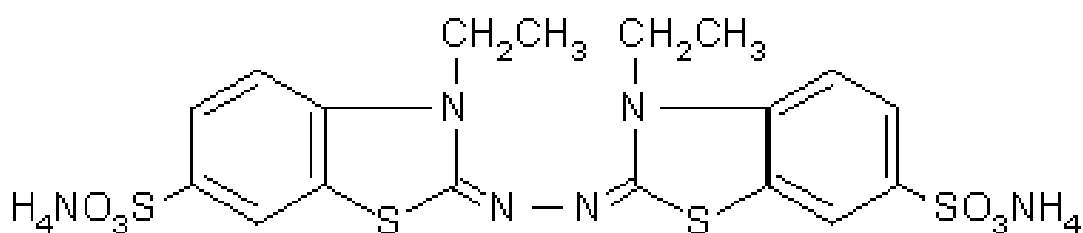
Methodenkritisch ist anzumerken, dass der zum Zeitpunkt der Untersuchung angewandte LAL-Test zwischenzeitlich nicht mehr dem aktuellen Stand der Analysenmethodik entspricht. Dieser LAL-Test kann durch verschiedene unspezifische Faktoren beeinflusst werden. Verlässlichere Ergebnisse liefert heute der ELISA-Test, der von diesen Faktoren weniger abhängig ist. Somit sind die hier dargestellten Ergebnisse als Orientierungshilfen zu betrachten.

### 3.3.4 TEAC

Das hier angewendete Verfahren ist von MILLER et al. (1996) beschrieben. Die Bestimmung der TEAC erfolgte im Labor der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig bei einer Wellenlänge von 734 nm mittels Spectrophotometer DU 640B der Firma BECKMAN Coulter GmbH, Krefeld (Tabelle 9).

Die antioxidative Kapazität im Serum wird fotometrisch bestimmt. Hierzu kam das BECKMAN-Photometer zur Anwendung. Als Reagenzien dienen PBS-Puffer, ABTS<sup>+</sup>-Lösung und Trolox. Es werden analysenreine Chemikalien und bidestilliertes Wasser verwendet.

- PBS-Puffer: Phosphate buffered saline
- Diese Lösung besteht aus Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 12 H<sub>2</sub>O (1,7907 g/l) und NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O (0,655 g/l) mit einem pH-Wert von 7,40, dazu 9,0 g/l NaCl. Der Puffer darf kein Natriumazid oder andere Zusätze enthalten.
- ABTS: 2,2'-Azino-bis[3-ethylbenz-thiazoline-6-sulphonic acid] diammonium salt, Firma SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Steinheim, Artikel-Nr. A 1888 (Abbildung 2).



**Abbildung 2:** ABTS-Molekül

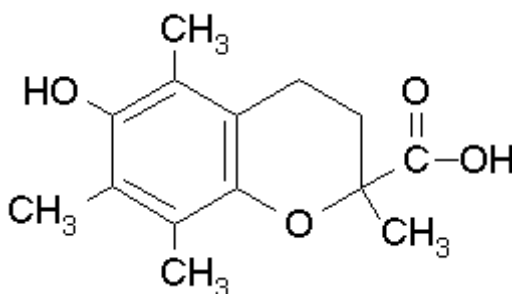
Es wird eine 5 mM ABTS-Stammlösung (0,1372 g/ 50 ml PBS-Puffer) hergestellt und diese hellgrüne ABTS-Lösung über MnO<sub>2</sub> (Manganese Dioxide, Firma SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Steinheim, Artikel-Nr. M-1656) mittels WHATMAN No.5-Filtrierpapiers gegeben (Firma WHATMAN International Ltd., Maidstone, Großbritannien). Dabei entsteht das ABTS<sup>+</sup>-Kation. Diese Lösung ist nun dunkelgrün gefärbt. Überschüssiges MnO<sub>2</sub> wird durch Filtration mit einem 0,2 µm WHATMAN PVDF syringe Filter entfernt.



Vor Beginn der Messungen wird diese  $\text{ABTS}^+$ -Lösung mit PBS-Puffer verdünnt, bis eine Extinktion von  $0,700 \pm 0,020$  bei 734 nm im Photometer erreicht ist.

Mittels einem Teil  $\text{ABTS}^+$ -Lösung und fünf Teilen PBS-Puffer wird die Lösung hergestellt und dann durch weiteren Zusatz von PBS-Puffer oder  $\text{ABTS}$ -Lösung auf 0,700 eingestellt. Als Null-Abgleich dient der PBS-Puffer. Diese Lösung ist einige Tage dunkel und gekühlt haltbar, muss aber vor jedem Gebrauch mit der unverdünnten  $\text{ABTS}^+$ -Stammlösung wieder auf die Extinktion von 0,700 eingestellt werden sowie nach ca. 20 Messungen kontrolliert und gegebenenfalls korrigiert werden. Während des Messvorgangs muss die Lösung in einem Wasserbad auf 25°C konstant warm gehalten werden.

- Trolox: 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure, Firma SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Steinheim, Artikel-Nr. A 23,881-3 (Abbildung 3).



**Abbildung 3:** Trolox-Molekül

- Trolox dient als Standard. Es wird eine 2,5 mM Troloxlösung in PBS-Puffer als Stamm-Standard hergestellt. Beim pH-Wert von 7,40 ist in dieser Konzentration die Löslichkeitsgrenze für Trolox erreicht. Zur vollständigen Lösung der Kristalle ist Ultraschall erforderlich. Dieser Stamm-Standard ist tiefgefroren begrenzt haltbar. Daraus sind täglich frisch die Standards für die Kalibrierkurve durch folgende Verdünnung mit PBS-Puffer zu bereiten:
- 2,5 mM Trolox: unverdünnt
  - 2,0 mM Trolox: 100 µl 2,5 mM Trolox + 25 µl PBS-Puffer
  - 1,5 mM Trolox: 100 µl 2,5 mM Trolox + 60 µl PBS-Puffer
  - 1,0 mM Trolox: 100 µl 2,5 mM Trolox + 150 µl PBS-Puffer
  - 0,5 mM Trolox: 100 µl 2,5 mM Trolox + 400 µl PBS-Puffer
  - mM Trolox: nur PBS

#### Vorbereitung der Messungen:

Mittels dieser Standards in den obengenannten Konzentrationen wird die Kalibrierkurve für das Photometer täglich neu erstellt. Die Extinktionen werden bei 734 nm doppelt bestimmt und der Mittelwert gebildet. Daraus lässt sich dann die TAA errechnen.

$$\text{TAA} = \frac{\text{Extinktion}_{\text{Nullwert}} - \text{Extinktion}_{\text{Standard}}}{\text{Extinktion}_{\text{Nullwert}}}$$

Auf der X-Achse wird die Trolox-Konzentration, auf der Y-Achse der dazu gehöriger TAA-Wert aufgetragen. Anschließend wird die Formel der Kalibrierkurve (z. B.  $y = 0,3709x - 0,0006$ ) berechnet. Daraus erfolgt die Bestimmung des Werts der TEAC für die Proben. Hierzu ist als Zwischenschritt die Berechnung der TAA erforderlich. Der TEAC-Wert ergibt sich dann durch das Umstellen der Formel nach x.

$$x (\text{TEAC}_{\text{Probe}} \text{ mmol/l}) = \frac{(y (\text{TAA}_{\text{Probe}}) + 0,0006)}{0,3709}$$

Die Berechnungen der TEAC-Werte erfolgten softwaregestützt (EXCEL-Programm).

#### Geräte und Hilfsmittel:

- Photometer nach BECKMAN
- Plastikkuvetten
- Temperiertes Wasserbad
- Kolbenhubpipetten (10 µl und variabel 100-1000 µl)

#### Messung:

Vor Messen der Proben wird der Nullwert am Photometer bei 734 nm mit PBS abgeglichen. Anschließend werden 10 µl Serum in eine PS-½-Mikrokuvette pipettiert und 990 µl ABTS<sup>+</sup>-Lösung zugegeben. Danach wird geschüttelt und die Extinktion bei 734 nm nach exakt einer Minute abgelesen. Die Proben werden doppelt bestimmt und gemittelt. Daraus kann der TEAC-Wert berechnet werden. Nach jeder Serumprobe wird der Nullwert anhand des PBS-Puffers abgeglichen.

#### Auswertung:

Die Quantifizierung der antioxidativen Kapazität erfolgt mittels einer Kalibriergeraden.

### 3.4 Statistische Auswertung

Die vorliegenden Messdaten aus den Laboranalysen werden für die statistische Auswertung aufbereitet und anschließend analysiert. Die grundsätzliche statistische Bearbeitung der erhobenen Daten erfolgte unter Verwendung der Statistik-Softwarepakete SAS (DUFNER et al. 2004) und STATISTICA Version 6.0.

Der Kolmogorov-Smirnov-Test (STEEL und TORRIE 1980) dient der Prüfung auf Normalverteilung für alle Parameter.

Für die Beschreibung der Zusammenhänge zwischen den gemessenen Parametern wird der Rang-Korrelationskoeffizient nach SPEARMAN (1904) berechnet.

Da die Anzahl der Messwiederholungen (Individuen) für die Faktorstufen unbalanciert ist, wird zur Berechnung signifikanter Unterschiede zwischen den Untersuchungsterminen (der Blutentnahme) eine mehrfaktorielle Varianzanalyse im generalisierten linearen Modell durchgeführt. Dieses Modell stellt eine Erweiterung der Varianzanalyse dar und bietet die Möglichkeit, sowohl der Unbalanciertheit der Daten Rechnung zu tragen, als auch Varianzhomogenität und unzureichende Normalverteilung zu berücksichtigen.

Als Messwiederholungen werden die Individuen (Pferd) herangezogen, der Faktor ist der Zeitpunkt der Blutentnahme.

Ein Mittelwertvergleich erfolgt nach der Methode der kleinsten Quadrate (SAS Anweisung: LS-MEANS). Standardmäßig werden dabei alle paarweisen Mittelwertvergleiche ausgegeben. Daher ist ein Vergleich zwischen allen Mittelwerten nicht möglich, wie es bei anderen Verfahren (z. B. Tukey-Test) gegeben ist.

Mit Hilfe der „pdiff“-Option der LS-MEANS-Anweisung sind die p-Werte für die Differenzen zwischen den einzelnen Mittelwerten zu beschreiben (SEARLE 1987). Diese sind dann quantitativ zu ordnen und entsprechend der vorliegenden Signifikanz ( $p < 0,05$ ) mit der Methode der Kennzeichnung durch unterschiedliche Buchstaben für signifikant unterschiedliche Mittelwerte zu unterscheiden und entsprechend in den Diagrammdarstellungen zu kennzeichnen. Zum Zwecke der Vergleichbarkeit der gemessenen Daten werden als erster Analyseschritt die Parameter auf ein gleiches Datenniveau mittels z-Transformation gebracht.

Die Regressionsanalyse ist ein statistisches Analyseverfahren mit dem Ziel, Beziehungen zwischen einer abhängigen und einer oder mehreren unabhängigen Variablen festzustellen (URBAN und MAYERL 2006).

Die Faktorenanalyse ist ein datenreduzierendes statistisches Verfahren und dient dazu, aus empirischen Beobachtungen verschiedener manifester Variablen auf zugrunde liegende latente Variablen (Faktoren) zu schließen (KRZANOWSKI 2000).

Die Clusteranalyse ist ein strukturentdeckendes multivariates Analyseverfahren zur Ermittlung von Gruppen (Clustern) aus Objekten, deren Eigenschaften bzw. ihre Ausprägungen bestimmte Ähnlichkeiten oder Unähnlichkeiten aufweisen. Die zu untersuchenden Objekte werden als Zufallsvariablen aufgefasst und in der Form von Vektoren als Punkte in einen Vektorraum dargestellt, deren Dimensionen die Eigenschaftsausprägungen bilden. Ein Cluster ist eine Anhäufung von Punkten, die in Bezug auf einen berechneten Schwerpunkt eine minimale Abstandssumme haben (BICKEL und SCHEFFER 2004). Da teilweise Hypothesen über die Anzahl der Cluster bestehen, kam hier das K-MEANS-Verfahren zur Anwendung. Dieses erzeugt exakt k verschiedene Cluster, die sich möglichst stark voneinander unterscheiden.

## 4 ERGEBNISSE

Alle untersuchten Tiere waren zu den Zeitpunkten der Probenentnahmen klinisch gesund und zeigten ein ungestörtes Allgemeinbefinden.

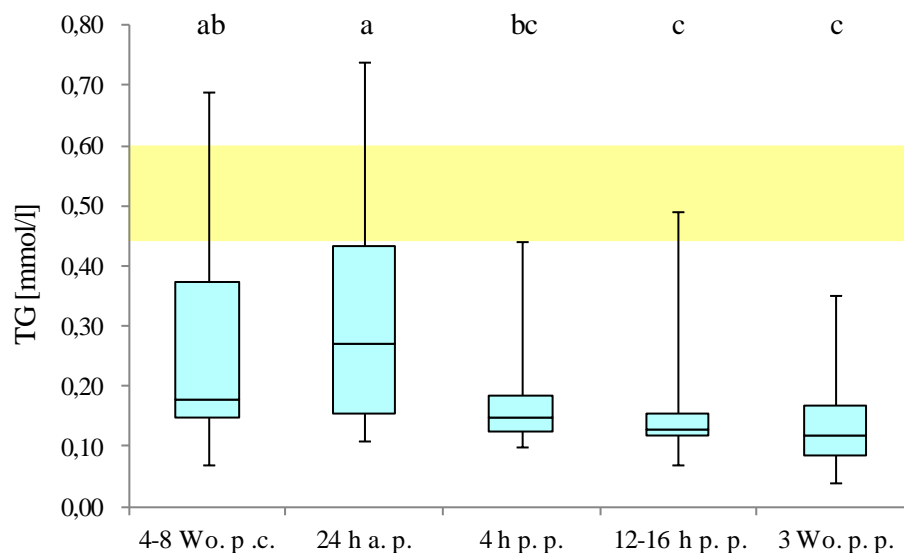
Es werden die Konzentrationen, Aktivitäten und absoluten Zahlen bei normalverteilten Variablen als Mittelwert ( $\bar{x}$ )  $\pm$  Standardabweichung (s) dargestellt. Bei nicht normalverteilten Variablen werden entsprechend der Median sowie I. und III. Quartil angegeben.

### 4.1 Lipidstoffwechsel

Zur Beurteilung des Lipidstoffwechsels werden folgende Parameter analysiert: TG, Cholesterol, FFS und BHB.

#### 4.1.1 Triacylglycerole (TG)

Die Konzentrationen der TG haben keinen pathologischen Charakter. Die Abbildung 4 veranschaulicht den Verlauf der TG-Konzentrationen während der einzelnen Untersuchungszeitpunkte. Die Konzentrationen der TG sind nicht normalverteilt. Ante partum ist die Tendenz erkennbar, dass die Konzentration der TG von Median: 0,18 mmol/l (I. Quartil: 0,15 mmol/l; III. Quartil: 0,375 mmol/l) auf Median: 0,27 mmol/l (I. Quartil: 0,155 mmol/l; III. Quartil: 0,435 mmol/l) ansteigt, während sie post partum auf Median: 0,15 mmol/l (I. Quartil: 0,125 mmol/l; III. Quartil: 0,185 mmol/l) deutlich signifikant sinkt ( $p \leq 0,05$ ) und auf dem erniedrigten Niveau verbleibt.



**Abbildung 4:** Triacylglycerole (mmol/l; Median, I./III. Quartil) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. Säulen mit gleichen Buchstaben sind nicht signifikant unterschiedlich. Gelb gekennzeichnete Referenzbereich

## Ergebnisse

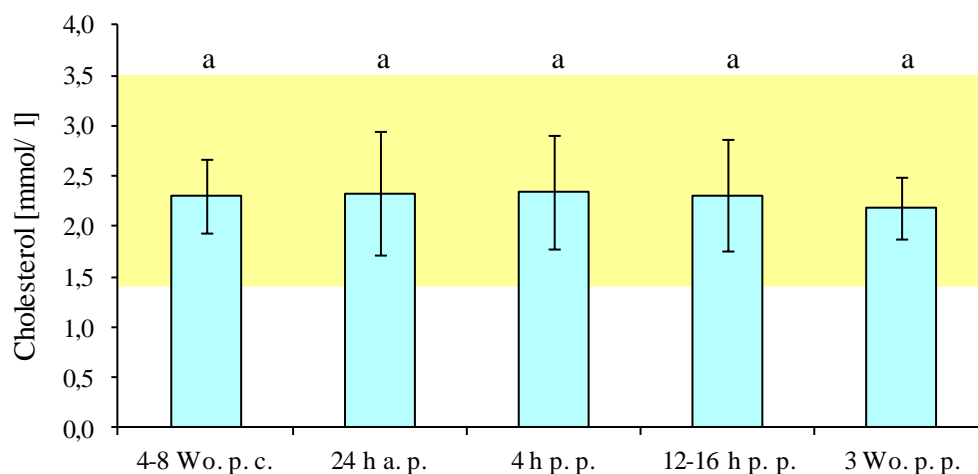
Zur Überprüfung des Zusammenhangs von TG und den übrigen Parametern wurden Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zur weiteren Analyse zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten bestimmt. In der Tabelle 10 sind die signifikanten Ergebnisse dargestellt.

**Tabelle 10:** Signifikante Korrelationen der Triacylglycerole mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungs-Zeitraum	Cholesterol	0,43	0,001
	Gesamtbilirubin	0,44	0,001
	Aspartat-Amino-Transferase	-0,23	0,050
	Glucose	0,29	0,011
	Alkalische Phosphatase	-0,24	0,042
	Albumin	0,36	0,002
	Harnstoff	-0,47	0,001
	Creatinin	0,37	0,001
	Creatinkinasen	-0,39	0,001
	Leukozyten	-0,25	0,031
1. post conceptionem	Cholesterol	0,69	0,004
	Glutamat-Dehydrogenase	0,58	0,024
	Alkalische Phosphatase	-0,57	0,027
	Albumin	0,76	0,001
2. 24 h ante partum	Cholesterol	0,66	0,007
	Albumin	0,58	0,024
	Harnstoff	-0,61	0,016
	Creatinin	0,81	0,001
3. 4 h post partum	Cholesterol	0,52	0,045
	Glucose	0,68	0,006
4. 12 h post partum	Gesamtbilirubin	0,53	0,042
	Totalprotein	0,54	0,042
	Albumin	0,72	0,003
	Trolox Equivalent Antioxidative Activity	0,60	0,019

### 4.1.2 Cholesterol

Die Abbildung 5 stellt den Verlauf der Cholesterol-Konzentrationen während der einzelnen Untersuchungszeitpunkte dar. Die Konzentrationen an Cholesterol im Serum zeigen über den gesamten Zeitraum keine signifikanten ( $p \leq 0,05$ ) Veränderungen, sie bleiben nahezu konstant bei  $\bar{x} = 2,30$  mmol/l ( $s = 0,49$  mmol/l) innerhalb der physiologischen Grenzen (Abbildung 5 **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**).



**Abbildung 5:** Cholesterol (mmol/l;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

In der Tabelle 11 sind signifikante Beziehungen zwischen Cholesterol und anderen Parametern mit Hilfe von Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten dargestellt.

**Tabelle 11:** Signifikante Korrelationen des Cholesterols mit anderen Parametern

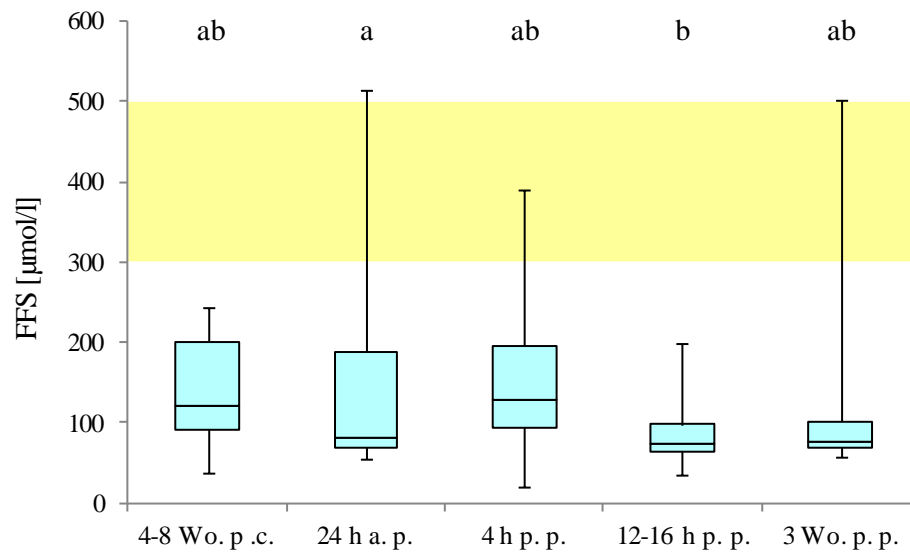
Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungs-Zeitraum	Triacylglycerole	0,43	0,001
	Alkalische Phosphatase	0,28	0,016
	Albumin	0,32	0,006
	Creatinin	0,60	0,001
	Creatinkinasen	-0,23	0,046
	Leukozyten	0,26	0,025
1. post conceptionem	Triacylglycerole	0,69	0,004
	Glutamat-Dehydrogenase	0,53	0,041
2. 24 h ante partum	Triacylglycerole	0,66	0,007
	Creatinin	0,80	0,001
3. 4 h post partum	Triacylglycerole	0,52	0,045
	Albumin	0,57	0,026
	Creatinin	0,65	0,009
4. 12 h post partum	Albumin	0,61	0,017
	Creatinin	0,63	0,012
5. 3 Wo. post partum	Alkalische Phosphatase	0,53	0,041
	Harnstoff	0,56	0,037
	Creatinin	0,61	0,022
	Leukozyten	0,56	0,038

#### 4.1.3 Freie Fettsäuren (FFS)

In der Abbildung 6 sind die Konzentrationen an FFS zu den einzelnen Messzeitpunkten widergegeben. Die FFS-Konzentrationen sind nicht normal verteilt. Ante partum zeigt sich ein nicht signifikanter Anstieg der Konzentrationen der FFS im Serum (Abbildung 6). Der Abfall der Konzentrationen unmittelbar post partum (Median: 128  $\mu\text{mol/l}$ ; I. Quartil: 94,5  $\mu\text{mol/l}$ ; III. Quartil: 196,5  $\mu\text{mol/l}$ ) bis zwölf Stunden post partum (Median: 75  $\mu\text{mol/l}$ ; I. Quartil: 64  $\mu\text{mol/l}$ ; III. Quartil: 98  $\mu\text{mol/l}$ ) ist nicht signifikant. Im späteren Verlauf ist tendenziell ein Anstieg festzustellen. Die Konzentrationen bleiben im physiologischen Bereich.



## Ergebnisse



**Abbildung 6:** Freie Fettsäuren ( $\mu\text{mol/l}$ ; Median, I./III. Quartil) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

Zur Überprüfung des Zusammenhangs von FFS und den übrigen Parametern wurden Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zur weiteren Analyse zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten bestimmt. In der Tabelle 12 sind die signifikanten Ergebnisse dargestellt.

**Tabelle 12:** Signifikante Korrelationen der Freien Fettsäuren mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	R	p
Gesamter Untersuchungs-Zeitraum	Gesamtbilirubin	0,35	0,002
	Creatinin	0,35	0,002
4. 12 h post partum	Aspartat-Amino-Transferase	0,64	0,010
	Creatinkinasen	0,67	0,007

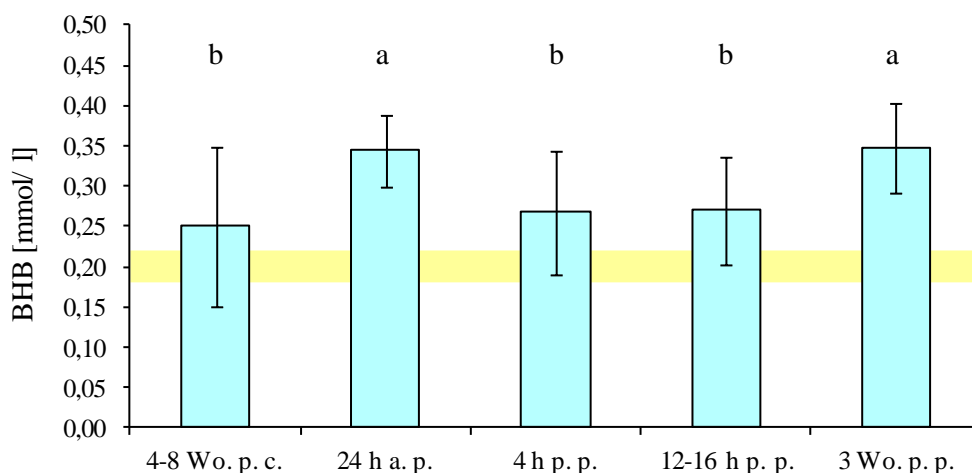
### 4.1.4 $\beta$ -Hydroxy-Butyrat (BHB)

Die Abbildung 7 veranschaulicht den Verlauf der BHB-Konzentrationen während der einzelnen Untersuchungszeitpunkte. Es ist ein deutlich signifikanter Anstieg der Serumkonzentrationen an BHB ante partum von  $\bar{x} = 0,25 \text{ mmol/l}$  ( $s = 0,10 \text{ mmol/l}$ ) auf  $\bar{x} = 0,34 \text{ mmol/l}$  ( $s = 0,05 \text{ mmol/l}$ ) zu verzeichnen ( $p \leq 0,05$ ).

Innerhalb der ersten zwölf Stunden post partum fallen die Konzentrationen signifikant von  $\bar{x} = 0,34 \text{ mmol/l}$  ( $s = 0,05 \text{ mmol/l}$ ) auf  $\bar{x} = 0,27 \text{ mmol/l}$  ( $s = 0,08 \text{ mmol/l}$ ) ab, um signifikant innerhalb der

## Ergebnisse

nächsten Wochen wieder von  $\bar{x} = 0,27 \text{ mmol/l}$  ( $s = 0,07 \text{ mmol/l}$ ) auf  $\bar{x} = 0,35 \text{ mmol/l}$  ( $s = 0,06 \text{ mmol/l}$ ) zu steigen und somit wieder vergleichbar mit den Ergebnissen ante partum zu sein (Abbildung 7).



**Abbildung 7:**  $\beta$ -Hydroxy-Butyrat (mmol/l;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

In der Tabelle 13 sind die signifikanten Ergebnisse dargestellt, die sich bei der Überprüfung des Zusammenhangs von BHB und den übrigen Parametern ergaben. Dazu wurden Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zur weiteren Analyse zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten ermittelt.

**Tabelle 13:** Signifikante Korrelationen des  $\beta$ -Hydroxy-Butyrats mit anderen Parametern

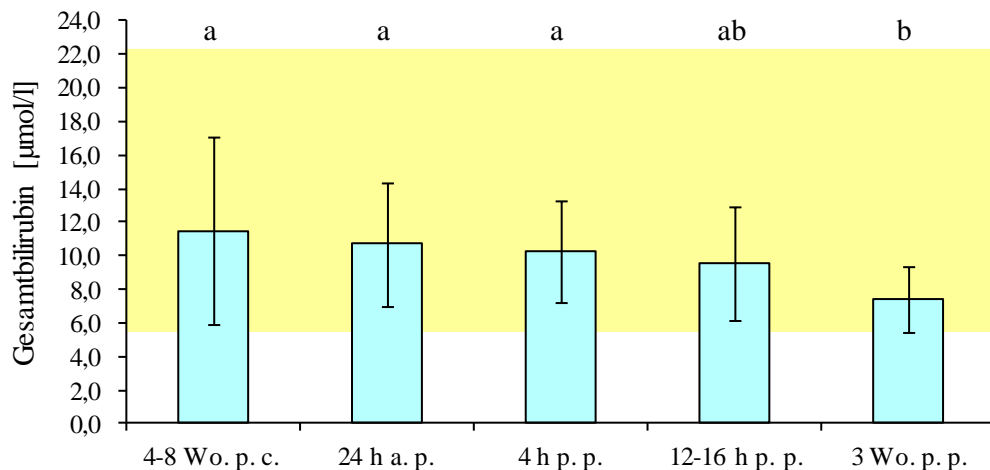
Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	R	p
Gesamter Untersuchungs-Zeitraum	Gesamtbilirubin	-0,39	0,001
	Glucose	-0,41	0,001
	Albumin	-0,35	0,002
	Harnstoff	0,23	0,048
1. post conceptionem	Gesamtbilirubin	-0,54	0,010
	Albumin	-0,63	0,011
	Creatinin	-0,56	0,029
4. 12 h post partum	Gesamtbilirubin	-0,54	0,040
5. 3 Wo. post partum	Glucose	-0,75	0,002
	Totalprotein	0,56	0,037

## 4.2 Leberstoffwechsel

Zur Beurteilung des Leberstoffwechsels werden folgende Parameter bestimmt: Gesamtbilirubin, ASAT, GLDH, GGT, Glucose und AP.

### 4.2.1 Gesamtbilirubin

Die Konzentrationen an Gesamtbilirubin werden in der Abbildung 8 dargestellt. In der Verlaufskurve ist ein signifikanter Abfall ( $p \leq 0,05$ ) der Serumkonzentration an Gesamtbilirubin im Zeitraum post partum von  $\bar{x} = 10,27 \mu\text{mol/l}$  ( $s = 2,99 \mu\text{mol/l}$ ) auf  $\bar{x} = 7,46 \mu\text{mol/l}$  ( $s = 1,98 \mu\text{mol/l}$ ) erkennbar (Abbildung 8). Die Konzentrationen sind im physiologischen Bereich.



**Abbildung 8:** Gesamtbilirubin ( $\mu\text{mol/l}$ ;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

Es wurden Rangkorrelationskoeffizienten, wie in der Tabelle 14 ersichtlich, berechnet. Diese geben die signifikanten Ergebnisse wieder, die sich bei der Überprüfung des Zusammenhangs von Gesamtbilirubin und den übrigen Parametern über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten herausstellten.

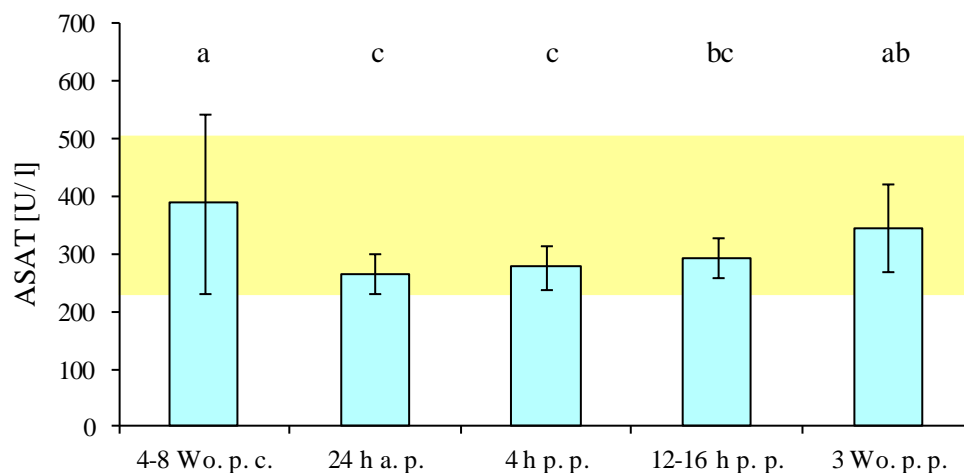
**Tabelle 14:** Signifikante Korrelationen des Gesamtbilirubins mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	R	p
Gesamter Untersuchungs-Zeitraum	Triacylglycerole	0,44	0,001
	Freie Fettsäuren	0,35	0,002
	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat	-0,39	0,001
	Glucose	0,27	0,018
	Albumin	0,27	0,018
	Harnstoff	-0,33	0,004
	Creatinin	0,31	0,006
	Creatinkinasen	-0,24	0,040
1. post conceptionem	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat	-0,64	0,010
	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase	0,72	0,002
4. 12 h post partum	Triacylglycerole	0,53	0,042
	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat	-0,54	0,040
	Glucose	0,64	0,010
	Albumin	0,65	0,008

#### 4.2.2 Aspartat-Amino-Transferase (ASAT)

Die Abbildung 9 stellt den Verlauf der ASAT-Aktivitäten während der einzelnen Untersuchungszeitpunkte dar. Die Signifikanz des Abfalls der Aktivitäten von  $\bar{x} = 388,97$  U/l ( $s = 156,24$  U/l) auf  $\bar{x} = 265,83$  U/l ( $s = 35,16$  U/l) der ASAT bis nach dem Abfohlen ist deutlich ( $p \leq 0,05$ ), danach steigen die Aktivitäten signifikant von  $\bar{x} = 277,68$  U/l ( $s = 38,14$  U/l) auf  $\bar{x} = 346,31$  U/l ( $s = 76,45$  U/l) an. Zu den beiden Untersuchungsterminen kurz nach der Bedeckung und drei Wochen post partum überschreiten die Aktivitäten die physiologischen Grenzen (Abbildung 9).

## Ergebnisse



**Abbildung 9:** Aspartat-Amino-Transferase (U/l;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

Zur Überprüfung des Zusammenhangs von ASAT und den übrigen Parametern wurden Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zur weiteren Analyse zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten bestimmt. In der Tabelle 15 sind die signifikanten Ergebnisse dargestellt.

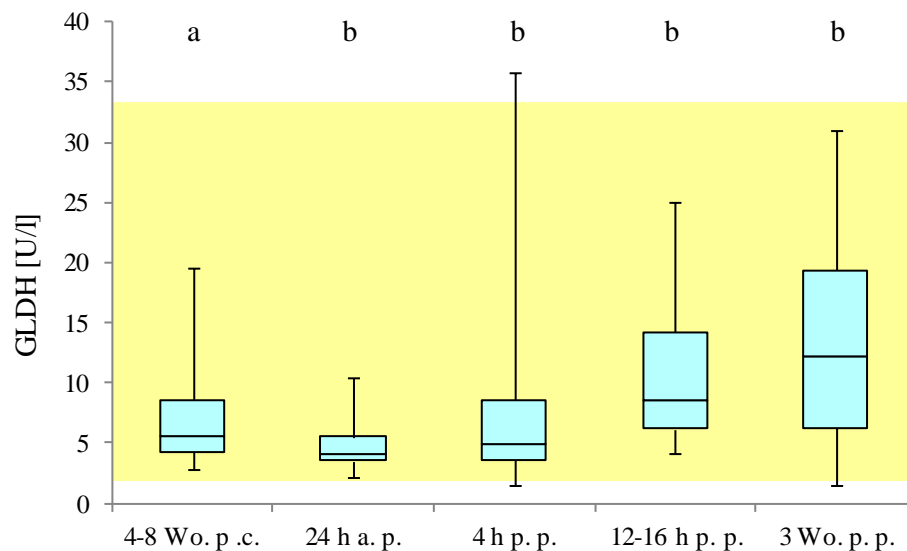
**Tabelle 15:** Signifikante Korrelationen der Aspartat-Amino-Transferase mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	R	p
Gesamter Untersuchungs-Zeitraum	Triacylglycerole	-0,23	0,050
	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase	0,36	0,002
2. ante partum	Creatinkinasen	0,58	0,023
4. 12 h post partum	Freie Fettsäuren	0,64	0,011
	Trolox Equivalent Antioxidative Activity	-0,55	0,032
5. 3 Wo. post partum	Albumin	0,65	0,012

### 4.2.3 Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)

Da es sich bei den GLDH-Aktivitäten um nicht normalverteilte Parameter handelt, erfolgt die Angabe des Medians, des I. und III. Quartils. Die GLDH-Aktivitäten bewegen sich im Wesentlichen innerhalb der physiologischen Grenzen (Abbildung 10) und zeigen einen deutlichen Abfall kurz vor der Geburt von Median: 5,7 U/l (I. Quartil: 4,3 U/l; III. Quartil: 8,55 U/l) auf Median: 4,1 U/l; (I. Quartil: 3,55 U/l; III. Quartil: 5,55 U/l).

Dieses niedrige Niveau bleibt dann während des restlichen Untersuchungszeitraumes erhalten. Die Spannweite der Quartile zum ersten Messzeitpunkt wurde statistisch interpoliert (Mittelwert über alle anderen Spannweiten), da mit dieser Abweichung sonst eine Variabilität außerhalb der statistischen Auswertbarkeit vorliegt.



**Abbildung 10:** Glutamat-Dehydrogenase (U/l; Median, I./III. Quartil) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

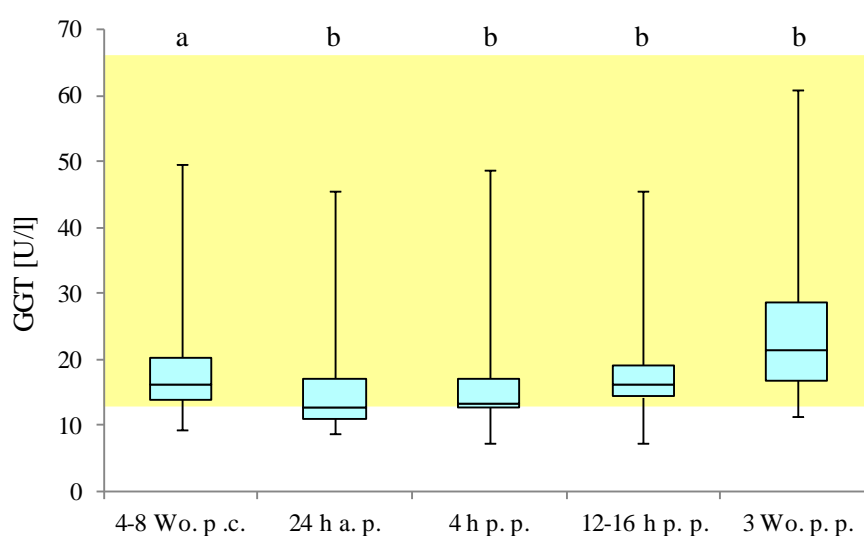
In der Tabelle 16 sind die signifikanten Ergebnisse der Überprüfung des Zusammenhangs von GLDH und den übrigen Parametern wiedergegeben. Dazu wurden Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zur weiteren differentiellen Analyse zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten bestimmt.

**Tabelle 16:** Signifikante Korrelationen der Glutamat-Dehydrogenase mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungs-Zeitraum	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase	0,29	0,010
	Harnstoff	0,23	0,049
	Leukozyten	0,27	0,017
	Trolox Equivalent Antioxidative Activity	0,24	0,037
1. post conceptionem	Triacylglycerole	0,58	0,024
	Cholesterol	0,53	0,041
2. 24 h ante partum	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat	-0,54	0,040
	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase	0,67	0,006
	Alkalische Phosphatase	0,52	0,047
	Totalprotein	-0,53	0,042

#### 4.2.4 $\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase (GGT)

Die Abbildung 11 stellt den Verlauf der GGT-Aktivitäten während der einzelnen Untersuchungszeitpunkte dar. Dieser Parameter ist ebenfalls nicht normal verteilt. Bei der GGT ist ein deutlicher Abfall ante partum von Median 16,1 U/l; I. Quartil: 14,0 U/l; III. Quartil 20,4 U/l auf Median 12,7 U/l; I. Quartil: 11,0 U/l; III. Quartil 17,05 U/l zu verzeichnen. Ein leichter Anstieg post partum ist statistisch nicht abgesichert. Die Werte befinden sich innerhalb der physiologischen Grenzen.



**Abbildung 11:**  $\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase (U/l; Median, I./III. Quartil) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

## Ergebnisse

In der Tabelle 17 werden die signifikanten Korrelationen der GGT zu den anderen Parametern aufgezeigt. Diese wurden mit Hilfe einer Rangkorrelationsanalyse über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zu den einzelnen Messzeitpunkten statistisch ermittelt.

**Tabelle 17:** Signifikante Korrelationen der  $\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase mit anderen Parametern

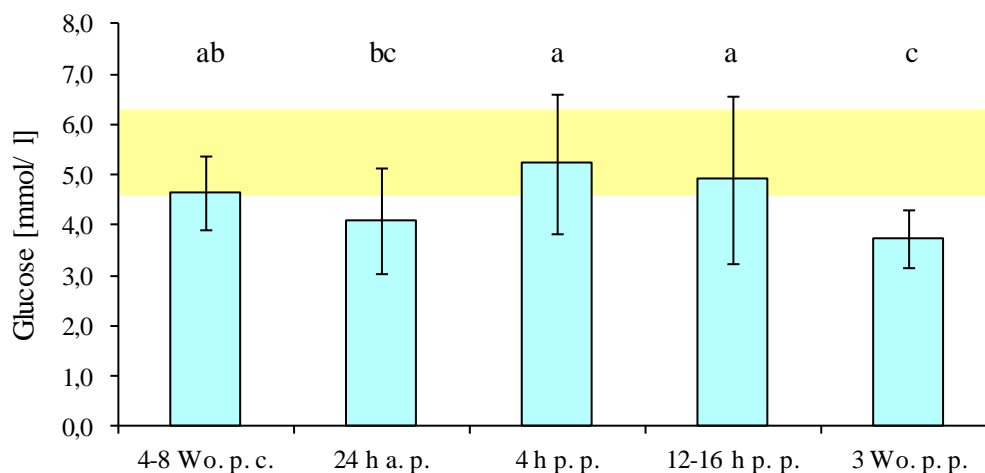
Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungs-Zeitraum	Aspartat-Amino-Transferase	0,36	0,002
	Glutamat-Dehydrogenase	0,29	0,010
	Alkalische Phosphatase	0,46	0,001
	Totalprotein	0,28	0,018
	Trolox Equivalent Antioxidative Activity	0,23	0,037
1. post conceptionem	Gesamtbilirubin	0,72	0,002
	Trolox Equivalent Antioxidative Activity	0,66	0,007
2. 24 h ante partum	Glutamat-Dehydrogenase	0,67	0,006
	Alkalische Phosphatase	0,66	0,008
	Totalprotein	-0,55	0,035

### 4.2.5 Glucose

Wie in Abbildung 12 dargestellt, sinkt die Serumkonzentration an Glucose ante partum tendenziell und steigt post partum signifikant von  $\bar{x} = 4,10$  mmol/l ( $s = 1,06$  mmol/l) auf  $\bar{x} = 5,24$  mmol/l ( $s = 1,39$  mmol/l) an ( $p \leq 0,05$ ). Zum letzten Untersuchungstermin ist wiederum ein signifikanter Abfall der Konzentrationen von  $\bar{x} = 4,92$  mmol/l ( $s = 1,67$  mmol/l) auf  $\bar{x} = 3,75$  mmol/l ( $s = 0,56$  mmol/l) zu erkennen, die sich alle im physiologischen Bereich befinden (Abbildung 12).



## Ergebnisse



**Abbildung 12:** Glucose (mmol/l;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

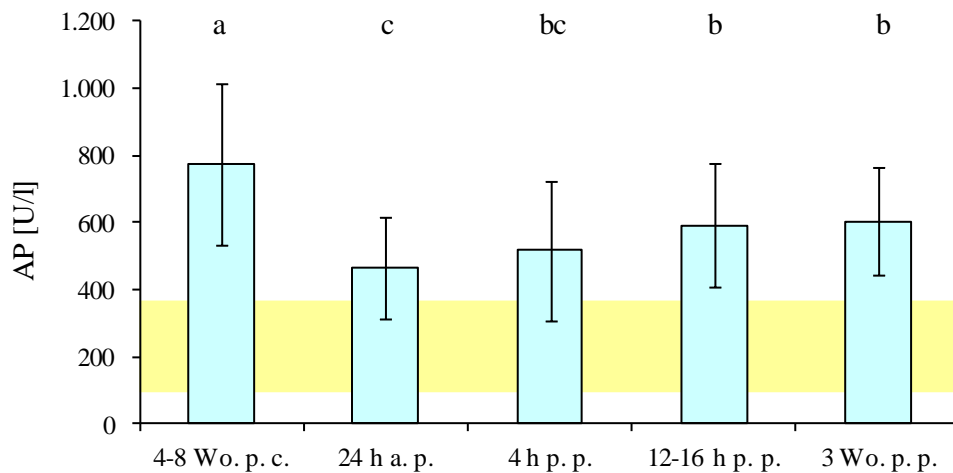
Zur Überprüfung des Zusammenhangs der Glucose zu den übrigen Parametern wurden Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zur weiteren Analyse zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten bestimmt. In der Tabelle 18 sind die signifikanten Ergebnisse dargestellt.

**Tabelle 18:** Signifikante Korrelationen der Glucose mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungs-Zeitraum	Triacylglycerole	0,29	0,012
	β-Hydroxy-Butyrat	-0,41	0,001
	Gesamtbilirubin	0,27	0,018
	Alkalische Phosphatase	-0,29	0,012
	Harnstoff	-0,24	0,041
1. post conceptionem	Alkalische Phosphatase	-0,72	0,002
2. 24 h ante partum	Alkalische Phosphatase	-0,54	0,037
3. 4 h post partum	Triacylglycerole	0,68	0,006
	Creatinin	0,59	0,022
4. 12 h post partum	Gesamtbilirubin	0,64	0,010
	Leukozyten	-0,57	0,035
5. 3 Wo. post partum	β-Hydroxy-Butyrat	-0,75	0,002
	Harnstoff	-0,67	0,009

#### 4.2.6 Alkalische Phosphatase (AP)

In der Abbildung 13 wird der Verlauf der AP-Aktivitäten während der einzelnen Untersuchungszeitpunkte aufgezeigt. Die Aktivitäten der AP bewegen sich nahezu vollständig oberhalb der physiologischen Grenzen (Abbildung 13). Ante partum zeigt sich ein signifikanter Abfall der Aktivität der AP von  $\bar{x} = 774,53$  U/l ( $s = 241,20$  U/l) auf  $\bar{x} = 467,00$  U/l ( $s = 151,64$  U/l), post partum ist wiederum ein signifikanter Anstieg von  $\bar{x} = 545,47$  U/l ( $s = 154,65$  U/l) auf  $\bar{x} = 603,57$  U/l ( $s = 160,24$  U/l) erkennbar ( $p \leq 0,05$ ).



**Abbildung 13:** Alkalische Phosphatase (U/l;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

In der Tabelle 19 sind die signifikanten Ergebnisse dargestellt, die sich bei der Überprüfung des Zusammenhangs von AP und den übrigen Parametern ergaben. Dazu wurden Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zur weiteren differentiellen Analyse zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten ermittelt.

**Tabelle 19:** Signifikante Korrelationen der Alkalischen Phosphatase mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungs-Zeitraum	Triacylglycerole	-0,24	0,041
	Cholesterol	0,28	0,016
	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase	0,46	0,001
	Glucose	-0,29	0,012
	Totalprotein	0,23	0,052
	Creatinkinasen	0,27	0,019
	Trolox Equivalent Antioxidative Activity	0,23	0,047
	Endotoxine	-0,24	0,034
1. post conceptionem	Triacylglycerole	-0,57	0,027
	Glucose	-0,72	0,002
	Albumin	-0,56	0,029
2.24 h ante partum	Glutamat-Dehydrogenase	0,52	0,047
	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase	0,66	0,008
	Glucose	-0,54	0,037
5. 3 Wo. post partum	Cholesterol	0,53	0,041

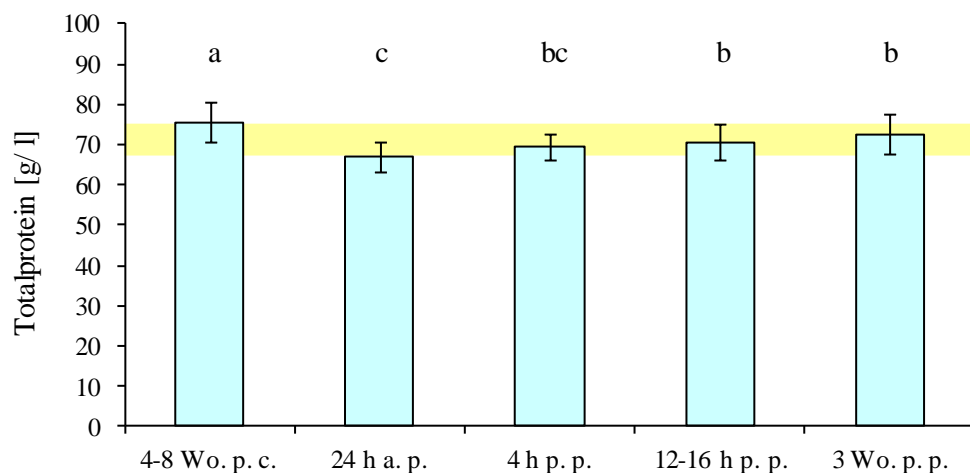
### 4.3 Protein- und Muskelstoffwechsel

Totalprotein, Albumin, Harnstoff, Creatinin sowie Creatinkinase dienen der Charakterisierung des Protein- und des Muskelstoffwechsels.

#### 4.3.1 Totalprotein (TP)

Die Abbildung 14 gibt die TP-Konzentration zu allen Untersuchungszeitpunkten wider. Die Konzentrationen des TP bewegen sich im physiologischen Bereich (Abbildung 14). Es zeigt sich eine signifikante Abnahme ante partum ( $p \leq 0,05$ ) von  $\bar{x} = 75,68$  g/l ( $s = 5,05$  g/l) auf  $\bar{x} = 67,16$  g/l ( $s = 3,62$  g/l). Post partum ist wiederum ein signifikanter Anstieg der Konzentrationen von  $\bar{x} = 69,48$  g/l ( $s = 3,18$  g/l) auf  $\bar{x} = 72,64$  g/l ( $s = 4,92$  g/l) zu erkennen, die aber das Ausgangsniveau nicht wieder erreichen.

## Ergebnisse



**Abbildung 14:** Totalprotein (g/l;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

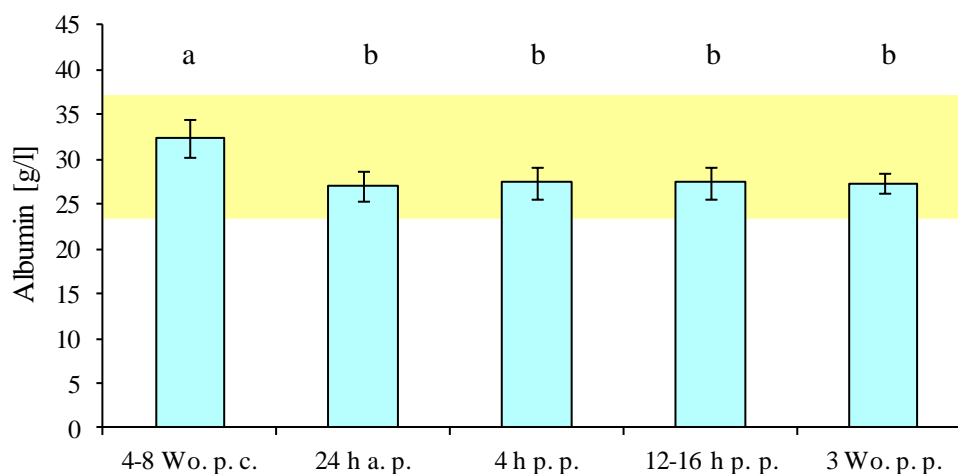
In der Tabelle 20 werden signifikante Beziehungen zwischen TP und anderen Parametern mit Hilfe von Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten dargestellt.

**Tabelle 20:** Signifikante Korrelationen des Totalproteins mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungszeitraum	Albumin	0,43	0,001
	Trolox Equivalent Antioxidative Activity	0,036	0,008
2. 24 h ante partum	Glutamat-Dehydrogenase	-0,53	0,042
	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase	-0,55	0,035
3. 4 h post partum	Endotoxin	0,55	0,036
4. 12 h post partum	Triacylglycerole	0,54	0,038
5. 3 Wo. post partum	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat	0,56	0,037

### 4.3.2 Albumin

Die Abbildung 15 veranschaulicht den Verlauf der Albumin-Konzentrationen zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten. Die Konzentration an Albumin im Serum ist kurz nach der Bedeckung signifikant höher ( $p \leq 0,05$ ) als im gesamten peri- und postpartalen Zeitraum (Abbildung 15). Die Konzentrationen sinken ante partum von  $\bar{x} = 32,49 \text{ g/l}$  ( $s = 2,11 \text{ g/l}$ ) auf  $\bar{x} = 27,05 \text{ g/l}$  ( $s = 1,68 \text{ g/l}$ ). Danach verändert sich die Albumin-Konzentration kaum. Die Konzentrationen sind im physiologischen Bereich.



**Abbildung 15:** Albumin (g/l;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

Zur Überprüfung des Zusammenhangs von Albumin und den übrigen Parametern wurden Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zur weiteren differentiellen Analyse zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten bestimmt. In der Tabelle 21 sind die signifikanten Ergebnisse dargestellt.

**Tabelle 21:** Signifikante Korrelationen des Albumins mit anderen Parametern

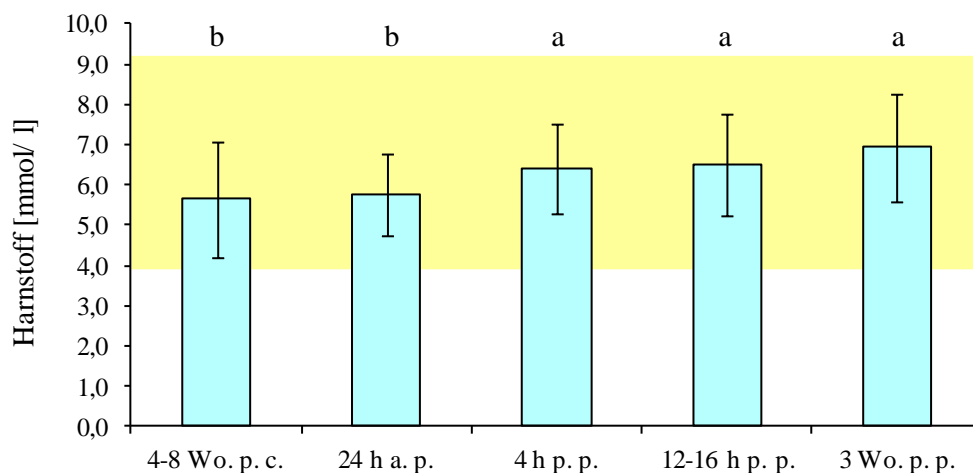
Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungszeitraum	Triacylglycerole	0,36	0,002
	Cholesterol	0,32	0,006
	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat	-0,35	0,002
	Gesamtbilirubin	0,27	0,018
	Totalprotein	0,43	0,001
	Harnstoff	-0,30	0,009
	Leukozyten	-0,34	0,003
1. post conceptionem	Triacylglycerole	0,76	0,001
	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat	-0,63	0,011
	Glutamat-Dehydrogenase	0,58	0,025
	Alkalische Phosphatase	-0,56	0,029
2. 24 h ante partum	Triacylglycerole	0,58	0,024
	Creatinin	0,69	0,004
3. 4 h post partum	Cholesterol	0,57	0,026
4. 12 h post partum	Triacylglycerole	0,72	0,003
	Cholesterol	0,61	0,017
	Gesamtbilirubin	0,65	0,008
	Creatinin	0,55	0,035
5. 3 Wo. post partum	Aspartat-Amino-Transferase	0,63	0,012

#### 4.3.3 Harnstoff

Die Harnstoffkonzentrationen des Serums zeigen, wie in Abbildung 16 dargestellt, einen signifikanten Anstieg post partum ( $p \leq 0,05$ ) von  $\bar{x} = 5,75$  mmol/l ( $s = 1,01$  mmol/l) auf  $\bar{x} = 6,42$  mmol/l ( $s = 1,10$  mmol/l), der über den restlichen Untersuchungszeitraum anhält (Abbildung 16).

Zum Zeitpunkt der letzten Untersuchung überschreiten die Konzentrationen teilweise den physiologischen Bereich.

## Ergebnisse



**Abbildung 16:** Harnstoff (mmol/l;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

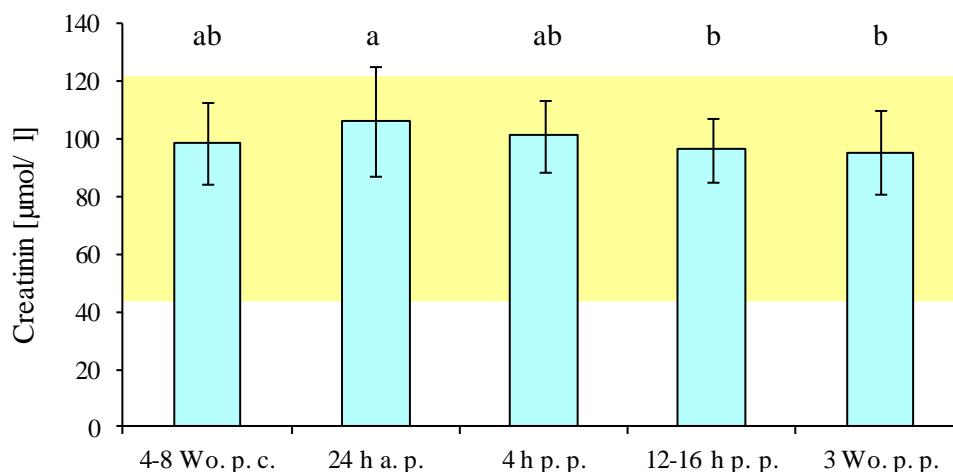
In der Tabelle 22 sind die signifikanten Ergebnisse der Überprüfung des Zusammenhangs von Harnstoff und den übrigen Parametern widergegeben. Dazu wurden Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zur weiteren differentiellen Analyse zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten bestimmt.

**Tabelle 22:** Signifikante Korrelationen des Harnstoffs mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungszeitraum	Triacylglycerole	-0,47	0,001
	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat	0,23	0,048
	Gesamtbilirubin	-0,33	0,004
	Glutamat-Dehydrogenase	0,23	0,049
	Glucose	-0,24	0,041
	Albumin	-0,30	0,009
	Leukozyten	0,36	0,002
1. post conceptionem	Creatinin	-0,51	0,050
2. 24 h ante partum	Triacylglycerole	-0,61	0,016
4. 12 h post partum	Leukozyten	0,55	0,044
5. 3 Wo. post partum	Cholesterol	0,56	0,037
	Glucose	-0,67	0,009

#### 4.3.4 Creatinin

In der Abbildung 17 wird der Verlauf der Creatinin- Konzentrationen während der einzelnen Untersuchungszeitpunkte verdeutlicht. Die Serumkonzentrationen des Creatinins bleiben während des Untersuchungszeitraumes im physiologischen Bereich (Abbildung 17). Ante partum ist ein tendenzieller Anstieg zu verzeichnen, der post partum signifikant ( $p \leq 0,05$ ) von  $\bar{x} = 106,20 \mu\text{mol/l}$  ( $s = 18,92 \mu\text{mol/l}$ ) auf  $\bar{x} = 96,60 \mu\text{mol/l}$  ( $s = 11,04 \mu\text{mol/l}$ ) auf die Ausgangskonzentration sinkt.



**Abbildung 17:** Creatinin ( $\mu\text{mol/l}$ ;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

Zur Überprüfung des Zusammenhangs von Creatinin und den übrigen Parametern wurden Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zur weiteren Analyse zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten bestimmt. In der Tabelle 23 sind die signifikanten Ergebnisse dargestellt.



**Tabelle 23:** Signifikante Korrelationen des Creatinins mit anderen Parametern

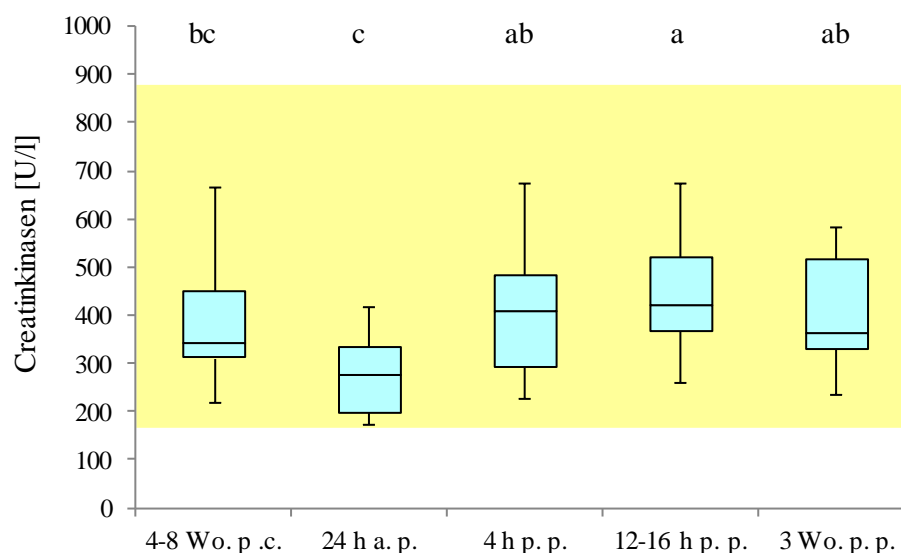
Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	R	p
Gesamter Untersuchungs-Zeitraum	Triacylglycerole	0,37	0,001
	Cholesterol	0,60	0,001
	Freie Fettsäuren	0,35	0,002
	Gesamtbilirubin	0,31	0,006
	Creatinkinasen	-0,35	0,002
1. post conceptionem	$\beta$ -Hydroxy-Butyrat	-0,56	0,029
	Harnstoff	-0,51	0,050
2. 24 h ante partum	Triacylglycerole	0,81	0,001
	Cholesterol	0,80	0,001
	Albumin	0,69	0,004
	Trolox Equivalent Antioxidative Activity	0,53	0,041
3. 4 h post partum	Cholesterol	0,65	0,009
	Glucose	0,59	0,022
4. 12 h post partum	Cholesterol	0,63	0,012
	Albumin	0,55	0,035
5. 3 Wo. post partum	Cholesterol	0,61	0,022

#### 4.3.5 Creatinkinase (CK)

Die Aktivitäten der CK sind nicht normalverteilt. Wie in Abbildung 18 widergegeben, ist ante partum ein tendenzieller Abfall der CK-Aktivitäten erkennbar, die dann post partum signifikant ( $p \leq 0,05$ ) von Median 277,6 U/l (I. Quartil: 197,4 U/l; III. Quartil: 334,55 U/l) auf Median 420,6 U/l (I. Quartil: 368,35 U/l; III. Quartil: 520,2 U/l) steigen und erst zum letzten Untersuchungstermin tendenziell wieder sinken (Abbildung 18).

Die Aktivitäten bewegen sich meist oberhalb der physiologischen Grenzen.

## Ergebnisse



**Abbildung 18:** Creatinkinase (U/l; Median, I./III. Quartil) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

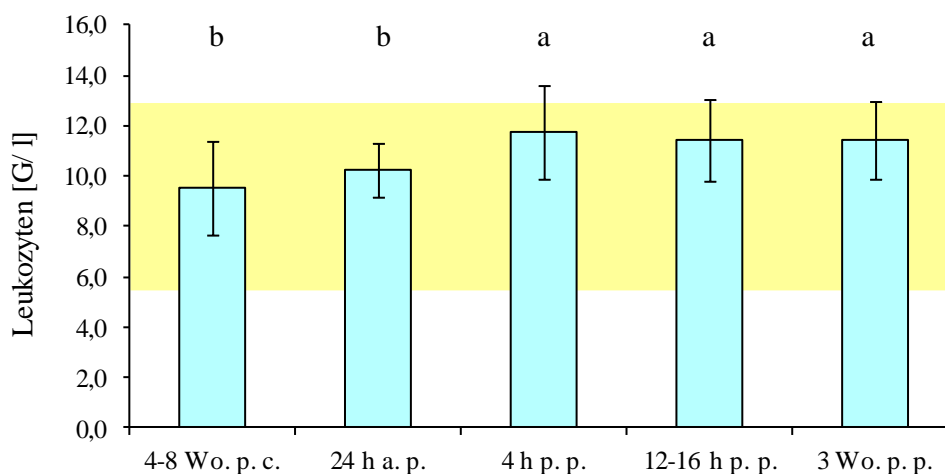
In der Tabelle 24 werden signifikante Beziehungen zwischen CK und anderen Parametern mit Hilfe von Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten beschrieben.

**Tabelle 24:** Signifikante Korrelationen der Creatinkinase mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungszeitraum	Triacylglycerole	-0,39	0,001
	Cholesterol	-0,23	0,046
	Bilirubin	-0,24	0,040
	Alkalische Phosphatase	0,27	0,019
	Creatinin	-0,35	0,002
1. post conceptionem	β-Hydroxy-Butyrat	0,54	0,036
2. 24 h ante partum	Aspartat-Amino-Transferase	0,58	0,023
4. 12 h post partum	Freie Fettsäuren	0,67	0,007
5. 3 Wo. post partum	Trolox Equivalent Antioxidative Activity	-0,73	0,002

#### 4.4 Leukozyten

Die Abbildung 19 stellt den Verlauf der Leukozytenzahlen während der einzelnen Untersuchungszeitpunkte dar. Post partum ist eine deutliche Signifikanz im Anstieg der Leukozyten von  $\bar{x} = 10,26 \text{ G/l}$  ( $s = 1,09 \text{ G/l}$ ) auf  $\bar{x} = 11,78 \text{ G/l}$  ( $s = 1,87 \text{ G/l}$ ) erkennbar ( $p \leq 0,05$ ), die dann auch die physiologischen Grenzen überschreiten und innerhalb des restlichen Untersuchungszeitraumes auf diesem erhöhten Niveau verbleiben (Abbildung 19).



**Abbildung 19:** Leukozytenzahlen (G/l;  $\bar{x} \pm s$ ) von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

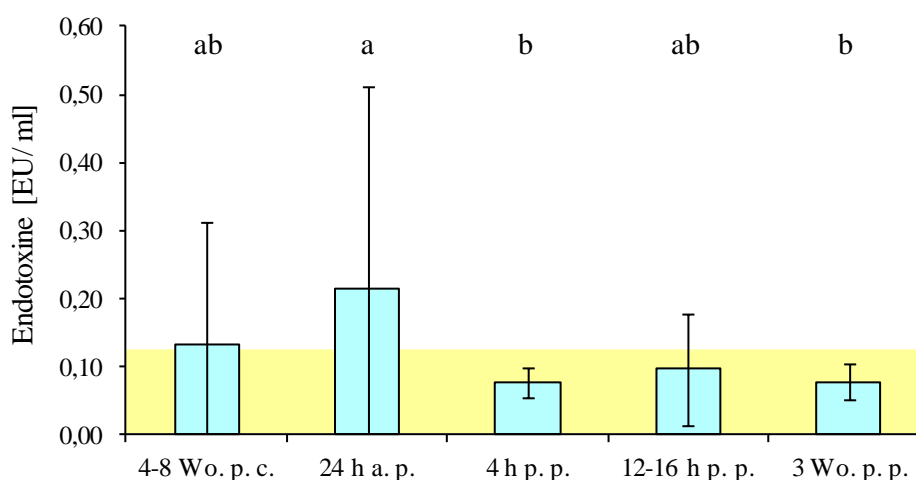
In der Tabelle 25 werden signifikante Beziehungen zwischen den Leukozytenzahlen und anderen Parametern mit Hilfe von Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten aufgeklärt.

**Tabelle 25:** Signifikante Korrelationen der Leukozyten mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungszeitraum	Triacylglycerole	-0,25	0,031
	Cholesterol	0,26	0,025
	Glutamat-Dehydrogenase	0,27	0,017
	Albumin	-0,34	0,003
	Harnstoff	0,36	0,002
4. 12 h post partum	Glucose	-0,57	0,035
	Harnstoff	0,55	0,044
5. 3 Wo. post partum	Cholesterol	0,56	0,038

## 4.5 Endotoxine

In der Abbildung 20 wird der Verlauf der Endotoxin-Konzentrationen während der einzelnen Untersuchungszeitpunkte aufgezeigt. Unmittelbar ante partum ist die Tendenz erkennbar, dass die Konzentrationen an Endotoxinen steigen. Post partum sinken die Serumkonzentrationen an Endotoxinen signifikant ( $p \leq 0,05$ ) von  $\bar{x} = 0,22$  EU/ml ( $s = 0,30$  EU/ml) auf  $\bar{x} = 0,08$  EU/ml ( $s = 0,02$  EU/ml). Auf diesem deutlich verringerten Niveau bleiben die Konzentrationen dann nahezu konstant. Konzentrationen kleiner als 0,0675 EU/ml sind angenommene Größen, da sich diese unterhalb der Nachweisgrenze bewegen (Abbildung 20).



**Abbildung 20:** Endotoxine (EU/ml;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

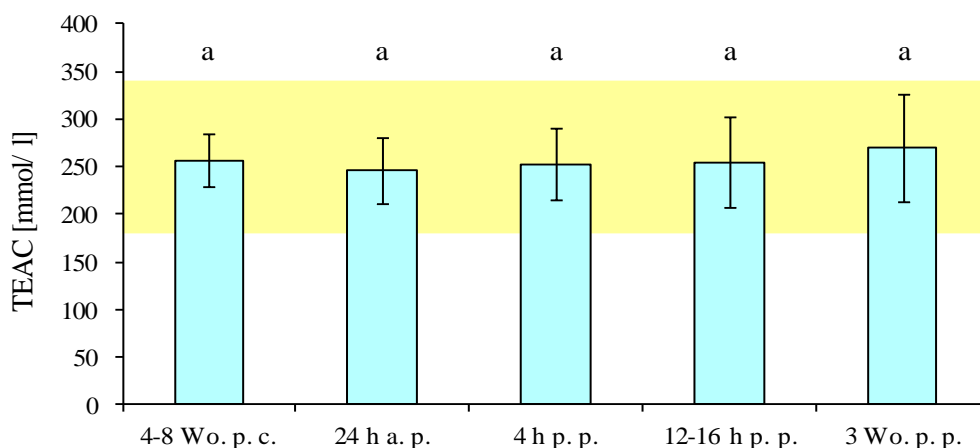
Es wurden Rangkorrelationskoeffizienten, wie in der Tabelle 26 ersichtlich, berechnet. Diese geben die signifikanten Ergebnisse wider, die sich bei der Überprüfung des Zusammenhangs von Endotoxin und den übrigen Parametern über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten herausstellten.

**Tabelle 26:** Signifikante Korrelationen der Endotoxine mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungszeitraum	Alkalische Phosphatase	-0,24	0,034
1. post conceptionem	Trolox Equivalent Antioxidative Activity	-0,60	0,023
3. 4 h post partum	Totalprotein	0,55	0,036
5. 3 Wo. post partum	Trolox Equivalent Antioxidative Activity	0,61	0,021

#### 4.6 TEAC

In der Abbildung 21 wird der Verlauf der TEAC-Konzentrationen während der einzelnen Untersuchungszeitpunkte aufgezeigt. Dieser zeigt keine signifikanten Differenzen. Tendenziell ist ante partum ein Abfall und post partum ein Anstieg zu verzeichnen (Abbildung 21).



**Abbildung 21:** Trolox Equivalent Antioxidative Activity (mmol/l;  $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.

Zur Überprüfung des Zusammenhangs von TEAC und den übrigen Parametern wurden Rangkorrelationskoeffizienten über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie zur weiteren differentiellen Analyse zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten bestimmt. In der Tabelle 27 sind die signifikanten Ergebnisse dargestellt.

**Tabelle 27:** Signifikante Korrelationen der Trolox Equivalent Antioxidative Activity mit anderen Parametern

Untersuchungszeitpunkt	Enzym/ Substrat	r	p
Gesamter Untersuchungszeitraum	Glutamat-Dehydrogenase	0,25	0,037
	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase	0,23	0,047
	Totalprotein	0,31	0,008
1. post conceptionem	$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase	0,66	0,007
	Endotoxin	-0,60	0,023
	Creatinin	0,53	0,041
4. 12 h post partum	Aspartat-Amino-Transferase	-0,55	0,032
5. 3 Wo. post partum	Creatinkinasen	-0,73	0,002
	Endotoxin	0,61	0,021

## 5 DISKUSSION

Die Hyperlipidämie der Ponys ist eine schwere, oft letal endende Störung des Lipidstoffwechsels mit Anstieg der Lipide im Blut sowie mit fettiger Infiltration der Leber und anderer Organe, die durch verschiedenste Stresssituationen (Gravidität und Partus) und kurzfristig verminderte Nahrungsaufnahme begünstigt wird (WENSING et al. 1975, JEFFCOTT und FIELD 1985, FÜRLI und SCHÄFER 1992b, WATSON et al. 1992, RIEBANDT 2005, WAITT und CEBRA 2009, DUNKEL et al. 2014). Eine Prädisposition zu Insulinresistenz wird hauptsächlich durch proinflammatorischer Zytokine (BURROWS 1981, BLANCHARD et al. 1985, DUNKLE et al. 1985, EWERT et al. 1985, MORRIS 1991, ALLEN et al. 1996, CALTABILOTA et al. 2010, HUFF et al. 2010) und von Prooxidantien verursacht, wobei potentiell Effekte aus dem Fettgewebe (TNF- $\alpha$ , IL 6, IL-14, Adiponektin) möglich sind (GOLDSTEIN et al. 2006, HOUSTIS et al. 2006, BELKNAP et al. 2007, VICK et al. 2007, ADAMS et al. 2009, TREIBER et al. 2009, UNGRU et al. 2012, VALLE et al. 2013, WRAY et al. 2013).

Mit der vorliegenden Arbeit sollten Antworten auf die Fragen gegeben werden, ob bei Shetlandponystuten in den verschiedenen Phasen der Gravidität, des Abfohlens und der Laktation Veränderungen von Parametern des Energie- und Lipidstoffwechsels auftreten, ob in diese potentiellen Wechselwirkungen auch Antioxidantien (TEAC) eingebunden sind und ob vergleichbare Stoffwechselbelastungen wie bei der Hyperlipidämie beobachtet werden können.

Die Ergebnisse der Korrelationsanalysen wurden nach internen (Lipidstoffwechsel, Leberstoffwechsel, Protein- und Muskelstoffwechsel) und externen Zusammenhängen geordnet. Die externen Betrachtungen wurden dem betreffenden Parameter zugeordnet aufgeführt. Die Korrelationsanalysen nach SPEARMAN (1904) ergaben nicht immer genügend aussagekräftige Zusammenhänge. Aus diesem Grund wurden die Parameter Endotoxine und TEAC nochmals in den Fokus der statistischen Auswertung gestellt und Regressionsanalysen unterzogen. Dazu wurden Cluster- und Faktorenanalysen durchgeführt. Relevante Ergebnisse der Regressions- und Faktorenanalysen werden in den folgenden Abschnitten bei den entsprechenden Parametern dargestellt. Die Ergebnisse der Clusteranalysen lassen keine klinischen bzw. inhaltlich relevanten Gruppierungen der Ponys erkennen (z. B. Standort, Alter, Anzahl der Geburten), auch Einzelfall-analytische Besonderheiten sind nicht festzustellen.

Bei der Beurteilung der Serumparameter peri- und postpartal muss die hormonelle Situation in diesem sensiblen Zeitraum berücksichtigt werden. Den Stuten fehlt in der späten Phase der Gravidität das Progesteron. Stattdessen sind mehrere, hauptsächlich 5 $\alpha$ -reduzierte Pregnane sowie das Pregnenolon wirksam (SCHOLTZ et al. 2014). Diese Gestagene sind 15 bis 5 Tage vor dem Abfohlen deutlich erhöht. Dann sinken die Werte 48 bis 24 h ante partum, kurz nachdem das fetale Cortisol massiv angestiegen ist, wodurch die Geburt eingeleitet wird (SILVER 1994).

Auch die Östrogene steigen in den letzten 20 bis 30 Tagen der Gravidität an und sinken ante partum drastisch ab (FOWDEN et al. 2008). Am Ende wird die Kontraktion des Uterus initiiert durch eine gesteigerte Prostaglandin- und Relaxinsynthese, wodurch auch das Oxytocin und das maternale Cortisol stimuliert und dadurch die Geburt ausgelöst wird (OUSEY 2004a). Post partum normalisieren sich diese Werte sehr schnell innerhalb von 48 h post partum (GÜNDÜZ et al. 2008).

### 5.1 Lipidstoffwechsel

Die Parameter TG, Cholesterol, FFS und BHB dienen der Beurteilung des Lipidstoffwechsels (KASTNER 2002).

Bei den Ergebnissen der durchgeführten Faktorenanalysen über den gesamten Untersuchungszeitraum konnte kein eindeutiger Lipidstoffwechsel-Faktor extrahiert werden. Lediglich die TG zeigten eine Faktorladung von 0,73 an. Jedoch liegen die Faktorenladungen von Cholesterol und FFS in diesem Hauptfaktor auch im oberen Bereich ( $> 0,60$ ). Ein Nebenfaktor konnte mit BHB (0,80) bestimmt werden. Um die bestehenden Zusammenhänge weiter zu analysieren, wurden die Faktorenanalysen zu einzelnen Untersuchungszeitpunkten durchgeführt.

Beim 1. Untersuchungszeitpunkt post conceptionem konnten ein Hauptfaktor sowie ein Nebenfaktor extrahiert werden, wobei Cholesterol (0,89) und FFS (0,72) den Hauptfaktor und BHB (0,87) den Nebenfaktor hochluden. Die TG bildeten dabei spezifische Varianzanteile in beiden Faktoren.

Beim 2. Untersuchungszeitpunkt direkt ante partum wurde mit 23% Varianzaufklärung ein Lipidstoffwechsel-Faktor mit einer Faktorladung von 0,79 (TG) und 0,70 (FFS) extrahiert. In Zeiten der erhöhten Stoffwechselbelastung findet bei Pferden und Ponys eine parallele Mobilisation der TG und der FFS aus dem Depotgewebe in das Plasma statt (SCHMIDT 1994). Die anderen beiden Parameter Cholesterol und BHB wiesen zu diesem Zeitpunkt ebenfalls keine spezifische Parameter-Faktoren-Zuordnung auf, wobei Cholesterol (0,87) einen Nebenfaktor hochgeladen hat.

Beim 3. Untersuchungszeitpunkt unmittelbar post partum konnte mit 22% Varianzaufklärung mit einer Faktorladung von 0,90 (Cholesterol), 0,65 (FFS) und 0,66 (TG) ein gemeinsamer Faktor extrahiert werden, wobei GLDH (Leberstoffwechsel) ebenfalls eine hohe Ladung (0,83) zeigte. Im peripartalen Zeitraum befinden sich die Stuten in einer Phase intensiven Stoffwechsels. Der Fett- und der Leberstoffwechsel sind daher nicht absolut isoliert zu betrachten. Dies belegen auch die Faktorenanalysen. Aufgrund der verminderten Futteraufnahme peripartal kommt es zu einer Aktivierung des Lipidstoffwechsels und damit zu einem Anstieg der FFS im Serum (FÜRLI et al. 1993).

Zum 4. Untersuchungszeitpunkt ca. zwölf Stunden post partum ließ sich ähnlich wie beim 2. Zeitpunkt direkt ante partum ein Lipidstoffwechsel-Faktor bei 18% Varianzaufklärung mit einer Faktorladung von 0,76 (TG) und 0,93 (FFS) extrahieren. BHB bzw. Cholesterol wurden in jeweils verschiedenen Faktoren hochgeladen (0,66 bzw. 0,81).

Als Ausdruck der eintretenden Laktogenese sind diese beiden Parameter mit dem Proteinstoffwechsel-Parameter CK (0,81) und TP (0,90) sowie dem Leberstoffwechsel-Parameter Gesamtbilirubin (0,80) in unterschiedlichen Merkmalen verankert. Der 5. Untersuchungszeitpunkt drei Wochen post partum ließ keine spezifischen Parameter-Faktoren-Zuordnungen erkennen.

Bei der Auswertung der Korrelationstabellen (Tabelle 10 bis Tabelle 14) ließen sich bei der internen Betrachtung des Lipidstoffwechsels mit seinen vier Parametern (TG, Cholesterol, FFS, BHB) lediglich vier relevante Beziehungen zwischen TG und Cholesterol finden.

Die TG (Tabelle 10) zeigten sowohl über den gesamten Untersuchungszeitraum als auch bei drei von fünf Untersuchungen nur eine Beziehung zu Cholesterol ( $r = 0,43$ ;  $p \leq 0,001$ ) und umgekehrt. Diese Korrelation erklärt sich durch die chemischen Zusammensetzung der LP sowie den relativen Anstieg der Cholesterol-Konzentration während der peripartalen Fettmobilisation. Dabei treten auch vermehrt TG im Serum auf.

Die FFS und das BHB zeigten zu den beiden anderen Parametern des Lipidstoffwechsels keine Beziehungen. Daraus ist zu folgern, dass die Parameter des Lipidstoffwechsels intern in keinem hohen Zusammenhang stehen. Diese aufgezeigten Zusammenhänge spiegelten sich ebenfalls in den Ergebnissen der Faktorenanalysen wider. Die zu erwartenden Korrelationen zwischen FFS und BHB konnten beim Pony hier nicht nachgewiesen werden.

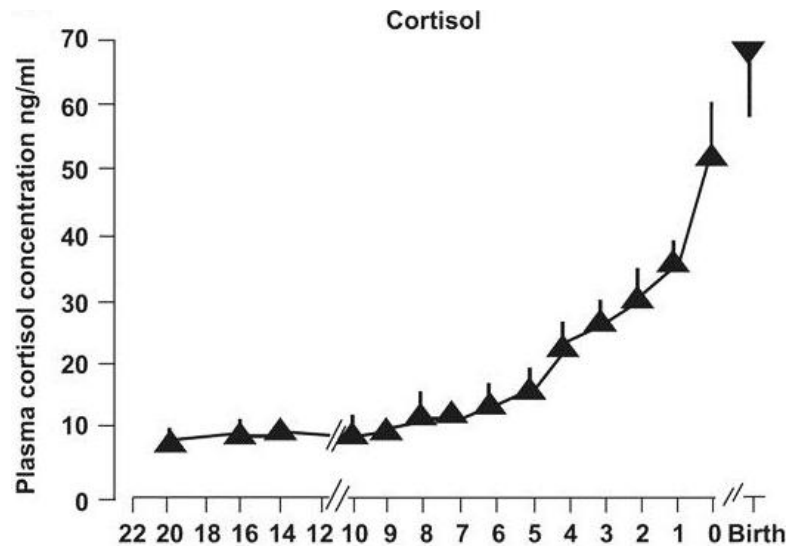
Bei der Auswertung der externen Beziehungen der Lipidstoffwechsel-Parameter zeigten diese die äußeren Beziehungen zu fünf Leberstoffwechsel- (mit Ausnahme der Glucose) und allen fünf Proteinstoffwechsel-Parametern, jedoch in unterschiedlicher Ausprägung.

### **5.1.1 Triacylglycerole (TG)**

Der Referenzbereich der TG-Konzentration schwankt rasseabhängig, wobei die Shetlandponys mit Werten von 0,44 bis 0,60 mmol/l deutlich höhere Konzentrationen aufweisen (GIESELER 2012).

Bei der vorliegenden Untersuchung befinden sich die TG-Konzentrationen gesamt innerhalb des physiologischen Bereichs, sie sind allerdings nicht normalverteilt. Besonders auffällig ist ein Anstieg der TG-Konzentrationen unmittelbar ante partum (Abbildung 4). Das ist offensichtlich die Folge des starken Anstieges der Cortisolkonzentration zur Auslösung des Geburtsvorganges (Abbildung 22). Post partum fallen die TG-Konzentration signifikant ab. Der hohe Östrogenspiegel unmittelbar ante partum führt ebenfalls zu einer Erhöhung der TG-Konzentration durch eine Reduzierung der LDL und einem Anstieg der VLDL (WALSH et al. 1991). Beziehungen der gesteigerten TG zum erhöhten Energiebedarf sowie der verringerten Futteraufnahme der Stuten zum Ende der Gravidität sind weiterhin denkbar. Post partum ist die TG-Konzentration signifikant fallend.





**Abbildung 22:** Arterielle Cortisolkonzentration im Plasma von chronisch katheterisierten fetalen Ponyfohlen, bezogen auf die Tage vor der Spontangeburt.  $\bar{x} \pm s$  für  $\geq 7$  Föten (FOWDEN et al. 2008)

Im gesamten Untersuchungszeitraum korrelieren die TG (Tabelle 10) negativ mit Harnstoff ( $r = -0,47$ ;  $p \leq 0,001$ ) und CK ( $r = -0,39$ ;  $p \leq 0,001$ ) sowie positiv mit Cholesterol ( $r = 0,43$ ;  $p \leq 0,001$ ) und Gesamtbilirubin ( $r = 0,44$ ;  $p \leq 0,001$ ). Die Korrelationen mit Cholesterol (Faktorenanalysen, Punkt 5.1) und Gesamtbilirubin sind als Ausdruck der funktionellen Beziehungen hoch. Dagegen bestanden keine gesicherten Beziehungen zu Endotoxin, Glucose und TEAC.

Die TG zeigen die stärksten Korrelationen (Tabelle 10) zu Albumin ( $r = 0,76$ ;  $p \leq 0,001$ ) zum ersten Untersuchungszeitpunkt post conceptionem und zu Creatinin ( $r = 0,81$ ;  $p \leq 0,001$ ) zum zweiten Untersuchungszeitpunkt direkt ante partum. Die TG-Konzentrationen haben im gesamten Untersuchungszeitraum einen ähnlichen Kurvenverlauf wie das Creatinin ( $r = 0,37$ ;  $p \leq 0,001$ ). Damit wird wahrscheinlich der Zusammenhang zwischen erhöhtem Energiebedarf und Wehentätigkeit widerspiegelt. Die Stuten haben aufgrund der eintretenden Laktogenese einen erhöhten Grundumsatz.

Gestützt werden die Ergebnisse zum Verlauf der TG-Konzentrationen durch Untersuchungen von WATSON et al. (1993b), HARVEY et al. (2005) und VAN WEYENBERG et al. (2008). Im Unterschied zum akuten Energiemangel bei ungenügender Futteraufnahme peripartal stellt die zunehmende Laktationsleistung einen erhöhten Energiebedarf bei gesteigerter Nahrungsaufnahme dar. Dadurch sinkt wiederum die TG-Konzentration (DURHAM 2006). Der hohe Östrogenspiegel unmittelbar ante partum führt zu einer Erhöhung der TG-Konzentration durch eine Reduzierung der LDL und einem Anstieg der VLDL (WALSH et al. 1991). TG, Creatinin und Bilirubin sind bei Stuten während der Gravidität höher als während der Laktation. Die TG sind am höchsten zur Mitte der Gravidität (HARVEY et al. 2005). WATSON et al. (1993b) beschrieben ebenfalls eine signifikante Korrelation ante partum zwischen TG- und Cholesterol-Konzentrationen.

Beziehungen zu bedarfsgerechter ( $0,52 \pm 0,16$  mmol/l) sowie energetischer Überversorgung ( $0,64 \pm 0,23$  mmol/l) konnten FÜRLL und FIEDLER (1992) für die TG bei Ponys nicht nachweisen.

In der vorliegenden Arbeit werden die Referenzwerte für gesunde Shetlandponys auch unter den Bedingungen der Gravidität, des Abfohlens und der Laktation bestätigt. Im Gegensatz dazu sind im Verlauf einer Hyperlipidämie deutlich erhöhte TG-Konzentrationen von 2,42 bis über 27 mmol/l zu erwarten (WENSING et al. 1975, WAITT und CEBRA 2009, DUNKEL et al. 2014), vor allem die VLDL sind betroffen (OIKAWA et al. 2006). Hinsichtlich Krankheitsausgang beobachteten FÜRLL und SCHÄFER (1992a) bei der Erstuntersuchung keine Unterschiede zwischen geheilten ( $7,66 \pm 2,74$  mmol/l) und Ponys mit Exitus letalis ( $3,53 \pm 3,74$  mmol/l), jedoch bei der letzten Probenentnahme ( $2,34 \pm 1,50$  mmol/l bzw.  $3,35 \pm 3,65$  mmol/l). Dieser Anstieg der TG-Konzentration stört zahlreiche physiologische Funktionen und verringert die Insulinsensitivität (McKENZIE 2011). Zeitgleich sind die Konzentration der FFS, die Aktivitäten der ASAT und der GLDH, später auch der CK sowie der AP erhöht, während die Glucosekonzentration sinkt (NAYLOR et al. 1980a). Solche Korrelationen konnten hier nicht nachgewiesen werden.

Bei Stuten, die geburtshilfliche Maßnahmen benötigten, waren TG signifikant erhöht (KEDZIERSKI et al. 2011). WREY et al. (2013) fanden bei Ponys mit akuter Hufrehe eine signifikante Erhöhung der TG. Die TG sind zusammen mit Gesamtbilirubin und GGT ebenso durch eine Kolik-OP erhöht und können auch postoperativ erhöht nachgewiesen werden. Bei einer hochgradigen Steigerung der TG-Konzentration sinkt die Überlebensrate bei einer Kolik-OP (UNDERWOOD et al. 2010). DUNKEL und McKENZIE (2003) konnten ebenfalls bei zufällig ausgewählten Serumproben von inappetenten oder apathischen Pferden eine Erhöhung der TG-Konzentration, verbunden mit einer gleichzeitigen Erhöhung der Creatinin-Konzentration, feststellen. Sie schlossen daraus auf einen direkten Zusammenhang zwischen dem Fettstoffwechsel einerseits sowie den Entzündungssymptomen, Creatinin-Konzentrationen und der Kondition der Pferde andererseits. Aber auch durch intensives Training kann die TG-Konzentration verdoppelt werden, wobei die Muskulatur eine höhere oxidative Kapazität erlangt und so vermehrt die Fettverbrennung als Energiequelle nutzen kann (LI et al. 2012).

### 5.1.2 *Cholesterol*

Der Referenzbereich der Cholesterol-Konzentration liegt beim Shetlandpony zwischen 1,4 und 3,5 mmol/l (GIESELER 2012).

Im gesamten Untersuchungszeitraum zeigt das Cholesterol nahezu gleichbleibende Konzentrationen (Abbildung 5) innerhalb des physiologischen Bereichs. Die Situationen der Hochträchtigkeit, des Abfohlens sowie die Laktation haben demzufolge keinen Einfluss. Auch die anabol wirkenden Östrogene, welche über die Synthese von HDL das Cholesterol verringern müssten, hatten in dieser Untersuchung keinen sichtbaren Einfluss.

Die Serumkonzentrationen des Cholesterols korrelieren im gesamten Untersuchungszeitraums positiv mit denen des Creatinins ( $r = 0,60$ ;  $p \leq 0,001$ ) (Tabelle 11). Cholesterol zeigt zum 2. Untersuchungszeitpunkt direkt ante partum die engste Beziehung zu Creatinin ( $r = 0,80$ ;  $p \leq 0,001$ ). Diese Korrelation ist mit dem steigenden Energiebedarf und der erhöhten Muskularbeit peripartal erklärbar. Beide Konzentrationen steigen aufgrund der Geburtsbelastung unabhängig voneinander in diesem Zeitraum an. Es bestanden keine gesicherten Beziehungen des Cholesterols zu Endotoxin, Glucose und TEAC.

Gesicherte Unterschiede zwischen bedarfsgerecht ( $2,50 \pm 0,23$  mmol/l) sowie energetisch übertensorgten Ponys ( $2,72 \pm 0,18$  mmol/l) konnten FÜRL und FIEDLER (1992) für Cholesterol bei Ponys nicht nachweisen. Bei fastenden Pferden erhöht sich das Cholesterol um 30 Prozent, verbunden mit einem Anstieg der FFS- und TG-Konzentrationen (FRANK et al. 2003). Der von WATSON et al. (1993b) beobachtete Konzentrationsanstieg von Cholesterol ante partum konnte hier nicht bestätigt werden. Im Unterschied dazu wurde bei Untersuchungen an hyperlipämischen Shetlandponys eine Erhöhung der Cholesterol-Konzentration um das Vierfache festgestellt, verbunden mit einer Erhöhung der FFS, TG und VLDL (WATSON et al. 1992, DUNKEL et al. 2014). Auch sind bei an *Trypanosoma evansi* infizierten Pferden signifikante Konzentrationsanstiege der TG, Cholesterol und Harnstoff zu erwarten (RANJITHKUMAR et al. 2013). Intensives Training erhöht ebenfalls die Cholesterol-Konzentration bis zu 20 Prozent, wodurch die Lipolyserate als Energiequelle als Ausdruck der oxidativen Kapazität der Muskulatur intensiviert wird, und damit mit einer Steigerung der TG-Konzentration korreliert (LI et al. 2012).

### 5.1.3 Freie Fettsäuren (FFS)

FÜRL und FIEDLER (1992) ermittelten den Referenzbereich für FFS bei Shetlandponys zwischen 300 und 500  $\mu\text{mol/l}$ .

Die Konzentrationen der FFS sind in dieser Untersuchung nicht normalverteilt (Abbildung 6). Die niedrigsten FFS-Konzentrationen bestehen 24 Stunden a. p. sowie 1-16 Stunden p. p. Ursächlich ist dafür ebenfalls der Cortisoleinfluss denkbar. Der Anstieg der FFS-Konzentrationen post partum (Median: 128  $\mu\text{mol/l}$ ; I. Quartil: 94,5  $\mu\text{mol/l}$ ; III. Quartil: 196,5  $\mu\text{mol/l}$ ) steht im Zusammenhang mit dem Geburtsstress. Danach sinken die FFS-Konzentrationen signifikant ab. Obwohl die Veränderungen insgesamt geringfügig sind, lassen sie an das Grundprinzip der gedämpften Schwingung nach Stresseinflüssen denken (SEIDEL et al. 1973).

Bei der Auswertung der Korrelationstabellen (Tabelle 12) fällt auf, dass die FFS intern mit keinem weiteren Lipidstoffwechsel-Parameter korrelieren (Punkt 5.1), jedoch extern vier Parameter-Beziehungen aufweisen. Über den gesamten Untersuchungszeitraum korrelieren die FFS mit Creatinin ( $r = 0,35$ ;  $p \leq 0,002$ ) sowie mit Gesamtbilirubin ( $r = 0,35$ ;  $p \leq 0,002$ ). Zum 4. Untersuchungszeitpunkt zwölf

Stunden post partum zeigen sich Korrelationen zwischen FFS und ASAT ( $r = 0,64$ ;  $p \leq 0,010$ ) und CK ( $r = 0,67$ ;  $p \leq 0,007$ ).

Diese Korrelationen ergeben sich aus dem zeitlichen Verlauf peri- und postpartal in Bezug auf den erhöhten Energiebedarf und der verstärkten Muskularbeit sowie der Stresssymptomatik während des Abfohlens. In dieser Studie korrelierten die FFS weder mit den Endotoxinen, der Glucose, noch mit der TEAC gesichert

WATSON et al. (1993b) beschrieben bei Shetlandponys ebenfalls einen signifikanten Konzentrationsanstieg an FFS post partum. Darüber hinaus spielt das Prolaktin der tragenden und laktierenden Stute durch seine stimulierende Wirkung auf die LPL-Aktivität eine wichtige Rolle, was zu einem vermehrten Auftreten von FFS im Serum führt. In dem Zeitraum von 0 bis 10 Wochen post partum weisen laktierende Stuten einen signifikant niedrigeren Leptinspiegel auf (HEIDLER et al. 2003). Leptin wird in den Adipozyten synthetisiert. Eine niedrige Leptinaktivität führt zu einer gesteigerten Futteraufnahme (HANDLER und AURICH 2009). Unter Endotoxineinfluss steigt die Leptinaktivität an (HUFF et al. 2010).

Die FFS werden an Albumin gebunden und zur Leber transportiert. Hier wird der überwiegende Teil der FFS zu TG verestert (RIEBANDT 2005). FILIPOVIĆ et al. (2010b) beschrieben einen signifikanten Anstieg der FFS- und der TG-Konzentration während der späten Gravidität bei Pferden. Der gleichzeitige Anstieg von FFS und Bilirubin, deren Korrelation auch in der vorliegenden Studie über den gesamten Untersuchungszeitraum nachgewiesen werden konnte, ist durch die Konkurrenz um dieselben Transportproteine in der Leber bedingt (NAYLOR 1980a). Gesicherte FFS-Unterschiede zwischen bedarfsgerecht ( $0,04 \pm 0,02$  mmol/l) sowie energetisch üerversorgte Ponys ( $0,12 \pm 0,02$  mmol/l;  $p < 0,001$ ) fanden FÜRLL und FIEDLER (1992).

Beim Vorliegen einer Hyperlipidämie steigen die FFS-Konzentrationen im Serum deutlich an (WATSON et al. 1992, FÜRLL und SCHÄFER 1992a). Diese können nur unvollständig oxidiert werden, was zur Verfettung der Organe (v. a. Leber, Nieren, Herzmuskulatur) mit fettiger Degeneration führt (JEFFCOTT und FIELD 1985). Im Krankheitsverlauf können positive Korrelationen der FFS zu TG, AP und ASAT nachgewiesen werden (FÜRLL und SCHÄFER 1992a).

Im Vergleich dazu konnten LI et al. (2012) bei intensiv trainierten Pferden einen Anstieg der FFS um bis zu 50% nachweisen, wodurch eine Erhöhung der Lipolyserate zur aeroben Energiegewinnung möglich wird. Die Konzentration von FFS steigt während des Belastungstests von Sportpferden deutlich an (WESTERMANN et al. 2008). VAN WEYENBERG et al. (2008) beobachteten eine Zunahme der FFS-Konzentrationen bei restriktiver Fütterung. BRINKMANN et al. (2013) bestätigten dies. Im Gegensatz dazu sinkt die Konzentration der FFS während einer Allgemeinanästhesie (TAYLOR 1998).

#### 5.1.4 $\beta$ -Hydroxy-Butyrat (BHB)

Das BHB, ein Ketonkörper, steht im Zusammenhang mit der Deckung des Energiebedarfs aus dem körpereigenen Fettdepot. FÜRLI und FIEDLER (1992) beschreiben einen Referenzbereich für Ponys von 0,18 bis 0,22 mmol/l.

Die Untersuchungsergebnisse zeigen ante partum einen signifikanten Anstieg der BHB-Konzentrationen. Post partum sinken diese signifikant ab, um wiederum einen signifikanten Anstieg innerhalb der nächsten Wochen zu verzeichnen (Abbildung 7). Alle hier ermittelten Werte liegen leicht oberhalb des obengenannten Referenzbereichs, scheinen allerdings keinerlei pathologischen Charakter anzuzeigen. Das in den letzten Trächtigkeitsmonaten einsetzende starke Wachstum des Fohlens sowie die Vorbereitung auf die Laktation stellen hohe Anforderungen an den Energiehaushalt der Stute dar. Der Bedarf steigt ante partum an. Trotz des relativen Energiemangel-Zustands entwickelt sich jedoch bei Equiden weder eine Ketonurie noch eine Ketonämie (DUNKEL et al. 2014), die durch Lipolyse aus dem Fettgewebe freigesetzten Fettsäuren werden in der Leber zu TG verestert. Im Verlauf der Laktation müssen die Stuten wiederum auf körpereigene Reserven zurückgreifen.

BHB ist zu Glucose ( $r = -0,41$ ;  $p \leq 0,001$ ) über den gesamten Untersuchungszeitraum negativ korreliert (Tabelle 13). Besonders deutlich wird dieser negative Zusammenhang zum 5. Untersuchungszeitpunkt ( $r = -0,75$ ;  $p \leq 0,002$ ) drei Wochen post partum. Diese negative Korrelation deutet eine Energiemangelsituation während des Abfohlens und der beginnenden Laktation an. Gesicherte Korrelationen zu den Endotoxinen und zur TEAC bestehen nicht.

Markanter Weise korreliert BHB auffallend oft negativ mit anderen Parametern, z. B. mit Albumin ( $r = -0,63$ ;  $p \leq 0,011$ ) und Creatinin ( $r = -0,56$ ;  $p \leq 0,029$ ). Dieses Phänomen wurde bisher in der Literatur nicht erwähnt.

Die vorliegende Arbeit (**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**) bestätigt die Ergebnisse von FILIPOVIC et al. (2010b), welche einen signifikanten Anstieg der BHB-Konzentration in der frühen Laktation bei Pferden beschrieben. Im Vergleich dazu verändert sich bei fastenden Shetlandponys die BHB-Konzentration kaum, ebenso wie die TP-Konzentration, während sich die Konzentrationen von Bilirubin und FFS signifikant erhöhen (BRINKMANN et al. 2013). WESTERMANN et al. (2008) beschrieben einen Abfall der BHB-Konzentrationen nach intensiver Belastung von Sportpferden, welcher mit FFS negativ korreliert. Beim Vorliegen einer Hyperlipidämie ist die BHB-Konzentration deutlich erhöht, eine Abnahme der Werte im Krankheitsverlauf lässt auf eine günstige Prognose schließen (FÜRLI und SCHÄFER 1992a).

Die BHB-Konzentration steht neben den FFS in Beziehung zur Energiebilanz (CLARK et al. 2005). Diese wird während der Säugeperiode entsprechend belastet. Nach DOREAU et al. (1990) schwankt die Milchleistung bei Großpferden von 21,7 bis 24,6 kg zwischen der 1. und 8. Laktationswoche. Fett-, Eiweiß-, Bruttoenergie- und Ca-Konzentrationen verringern sich signifikant, wenn der Laktosegehalt in diesem Zeitraum erhöht ist. Casein, Molkeprotein und Nicht-Protein-N (56%, 34% und 10% Rohprotein) sowie die

Aminosäurezusammensetzung variierten zwischen der 1. und 8. Laktationswochen nicht. OFTEDAL et al. (1983) beschreiben die Milchproduktion, orientiert am Körpergewicht, mit 3,1% bis 11 Tage p. p., 2,9% bis 25 Tage p. p. und 3,4% bis 39 Tage p. p.; das entspricht 149 g/kg, 139 g/kg und 163 g/kg. Die Nährstoffzufuhr als Bruttoenergieaufnahme betrug damit 9380 kcal, 7590 kcal und 8910 kcal. Für jedes Gramm Gewichtszunahme nehmen Fohlen 0,37 g Eiweiß und 8,3 kcal am 11. Tag, 0,26 g Eiweiß und 6,7 kcal am 25. Tag und am 39. Tag 0,30 g und 7,8 kcal auf.

GIBBS et al. (1982) beobachteten eine durchschnittliche tägliche Milchleistung von 11,8 kg in der frühen Laktation bis 9,8 kg Ende der Säugeperiode.

Die Milchleistung von Stuten mit unterschiedlicher Körperkondition unterscheidet sich nicht gesichert (16,5 und 15,4 kg/Tag für dicke bzw. dünne), jedoch die Milchezusammensetzung: Milch von fetten Stuten hatte einen höheren Fettgehalt als Milch von dünnen Stuten; das Milcheiweiß verhielt sich umgekehrt. Milchfettleistung war bei dicken Stuten mit 252 g/Tag höher als bei dünnen mit 187 g/Tag. Dies kann durch zu Unterschieden in der Lipidmobilisierung mit höheren FFS-Konzentrationen führen (DOREAU et al. 1993). Es wurden ebenso Unterschiede in der Milchleistung aufgrund der Anzahl der vorangegangenen Laktationen beobachtet. Auch die Ernährung beeinflusst die Milchleistung: Mit Sojaschrot gefütterte Stuten produzieren durchschnittlich 1,2 kg mehr Milch/Tag als Stuten, die als Ergänzung Harnstoff erhalten. Nach WATSON et al. (1993) gehen nach dem Abfohlen die TG- und VLDL-Konzentrationen im Blut infolge der erhöhten der Lipoproteinlipase-Aktivität deutlich zurück, die mit der Induktion des Enzyms im Euter zu Milchfettsynthese erfolgt. Plasmacholesteroll- und HDL-Konzentrationen bleiben auch p. p. hoch. FFS-Konzentrationen waren signifikant erhöht. Nach WATSON et al. (1993b) ist die Inzidenz von Hyperlipidämie bei Ponystuten in der späten Trächtigkeit und in der frühen Säugeperiode am höchsten.

## 5.2 Leberstoffwechsel

Im Stoffwechsel nimmt die Leber mit ihren zahlreichen Funktionen eine zentrale Stellung ein. Die Parameter Gesamtbilirubin, ASAT, GLDH, GGT, Glucose und AP dienen der Beurteilung des Leberstoffwechsels.

Bei den durchgeführten Faktorenanalysen über den gesamten Untersuchungszeitraum konnte keine eindeutige Zuordnung der Leberstoffwechsel-Parameter zu einem Faktor nachgewiesen werden. Zum 1. Untersuchungszeitpunkt post partum bilden Glucose mit 0,82 und AP mit 0,84 sowie Bilirubin mit 0,67 und GGT mit 0,92 jeweils einen gemeinsamen Faktor. Zum 2. Untersuchungszeitpunkt unmittelbar ante partum sind in einem Faktor GLDH (0,72) und GGT (0,83) bei einer Varianzaufklärung von 15% hoch geladen. In diesem Zeitraum befinden sich die Stuten in einer Phase des relativen Fastens, körpereigene Fettreserven werden mobilisiert. Somit ist der Leberstoffwechsel in dieser Studie gut abgebildet, die Aktivitätsschwankungen sind durch die erhöhten metabolischen Anforderungen peripartal besonders deutlich. Die 3., 4. und 5. Untersuchungszeitpunkte p. p. lassen keine spezifische Parameter-Faktoren-

Zuordnung erkennen. Festzustellen ist auch, dass die Leberstoffwechsel-Parameter insgesamt weniger externe Beziehungen als die Lipidstoffwechsel-Parameter zeigen. Bei der Auswertung der Korrelationstabellen (Tabelle 14 bis Tabelle 19) weist das Datenmaterial offensichtlich weniger interne Beziehungen zwischen den Leberstoffwechsel-Parametern auf als externe Beziehungen zu den übrigen Parametern. Festzustellen ist auch, dass die Leberstoffwechsel-Parameter insgesamt weniger externe Beziehungen als die Lipidstoffwechsel-Parameter zeigen.

Bei der internen Betrachtung des Leberstoffwechsels mit seinen sechs Parametern lassen sich verschiedene Beziehungen feststellen:

Gesamtbilirubin (Tabelle 14) zeigt zu zwei weiteren Leberstoffwechsel-Parametern statistisch gesicherte Beziehungen: GGT ( $r = 0,72$ ;  $p \leq 0,002$ ) sowie Glucose ( $r = 0,64$ ;  $p \leq 0,010$ ). Diese Beziehungen sind Ausdruck kurzfristiger stärkerer Stoffwechselbelastungen, verbunden mit Mobilisation körpereigener Fettreserven. Die Aktivität der ASAT (Tabelle 15) zeigt während des gesamten Untersuchungszeitraums erwartungsgemäß eine deutliche Korrelation mit der GGT ( $r = 0,36$ ;  $p \leq 0,002$ ). GLDH (Tabelle 16) korreliert mit zwei weiteren Leberstoffwechsel-Parametern: AP ( $r = 0,52$ ;  $p \leq 0,047$ ) und GGT ( $r = 0,67$ ;  $p \leq 0,006$ ), die die Lipidakkumulation und Cholestase signalisieren. Die GGT (Tabelle 17) korreliert mit den Parametern: AP ( $r = 0,66$ ;  $p \leq 0,008$ ), ASAT ( $r = 0,36$ ;  $p \leq 0,002$ ), GLDH ( $r = 0,67$ ;  $p \leq 0,006$ ) und Gesamtbilirubin ( $r = 0,72$ ;  $p \leq 0,002$ ), sowie die Glucose (Tabelle 18) mit dem Gesamtbilirubin ( $r = 0,64$ ;  $p \leq 0,010$ ) sowie negativ mit AP ( $r = -0,54$ ;  $p \leq 0,037$ ). Die AP (Tabelle 19) schließlich korreliert mit der GLDH ( $r = 0,52$ ;  $p \leq 0,047$ ), mit der GGT ( $r = 0,66$ ;  $p \leq 0,008$ ) sowie negativ mit Glucose ( $r = -0,54$ ;  $p \leq 0,037$ ).

### 5.2.1 Gesamtbilirubin

GIESELER (2012) ermittelte für Bilirubin einen Referenzbereich zwischen 5,5 und 22,3  $\mu\text{mol/l}$ , FÜRLI und FIEDLER (1992) von 9,6 bis 11,6  $\mu\text{mol/l}$ .

In der vorliegenden Arbeit sind die Bilirubinkonzentrationen im physiologischen Bereich. Der Kurvenverlauf der Gesamtbilirubin-Konzentrationen zeigt einen stetigen Abfall, der p. p. signifikant ist (Abbildung 8). Dies deutet auf eine zunehmende Entlastung des Energiestoffwechsel und auf die offensichtlich wieder steigende Futteraufnahme p. p. hin. Die späte Gravidität sowie das Abfohlen haben somit kaum Auswirkung auf die Bilirubinkonzentration.

Bilirubin korreliert mit den FFS ( $r = 0,35$ ;  $p \leq 0,002$ ) im gesamten Untersuchungszeitraum (Tabelle 14) auf der Basis des Inanitionsikterus. Weitere gesicherte Korrelationen bestehen mit den TG ( $r = 0,44$ ;  $p \leq 0,001$ ) sowie negativ mit Harnstoff ( $r = -0,33$ ;  $p \leq 0,004$ ) und BHB ( $r = -0,64$ ;  $p \leq 0,010$ ). Post partum korreliert Bilirubin mit Albumin ( $r = 0,65$ ;  $p \leq 0,008$ ), die beide antioxidativ wirken. Mit der TEAC korrelieren sie jedoch nicht gesichert, desgleichen nicht mit Endotoxin.

Einen ähnlichen Konzentrationsverlauf des Bilirubins beschreiben HARVEY et al. (2005), die ebenfalls einen Abfall in der Gravidität nachwiesen. Die Leber ist zum Ende der Gravidität mit dem veränderten Lipidstoffwechsel zur Energiebereitstellung belastet, p. p. sinkt die Belastung der Leber.

Die Korrelation von Gesamtbilirubin zu Albumin wird in Untersuchungen von WINTER (2009) bestätigt. Die Autorin konnte bei Pferden eine signifikante Korrelation von Bilirubin mit TEAC und mit Albumin nachweisen, die sich daraus ergibt, dass sowohl Bilirubin als auch Albumin Komponenten der TEAC darstellen.

Im Unterschied zu den Untersuchungen an gesunden Shetlandponys ist Gesamtbilirubin zusammen mit TG und GGT bei einer Kolik-OP erhöht (UNDERWOOD et al. 2010). GRONWALL et al. (1980), NAYLOR et al. (1980b) sowie BRINKMANN et al. (2013) wiesen einen signifikanten Bilirubinanstieg im Serum von fastenden Ponys nach, welcher mit FFS positiv sowie mit TP und BHB negativ korrelierte. Im Serum von gesunden Fohlen ist das Bilirubin gegenüber adulten Pferden erhöht (BARTON und LeROY 2007).

### 5.2.2 *Aspartat-Amino-Transferase (ASAT)*

Der Referenzbereich für ASAT wird zwischen 228 bis 506 U/l beschrieben (GIESELER 2012).

In diesen Bereich ordnen sich auch die ASAT-Aktivitäten der vorliegenden Studie ein (Abbildung 9). Die beiden erhöhten ASAT-Aktivitäten kurz nach der Bedeckung und drei Wochen post partum treten zu genau der gleichen Jahreszeit auf. Ursächlich kommt der jahreszeitlich bedingte erhöhte Proteingehalt im Grünfutter in Betracht.

Ante partum besteht eine signifikante Korrelation (Tabelle 15) der ASAT mit der CK ( $r = 0,58$ ;  $p \leq 0,023$ ). Während des Abfohlens steigen die ASAT- und die CK-Aktivitäten aufgrund der Wehentätigkeit signifikant an. Im Zeitraum von 1 bis 21 Tagen p. p. korreliert ASAT gesichert mit FFS ( $r = 0,64$ ;  $p \leq 0,011$ ) und mit Albumin ( $r = 0,65$ ;  $p \leq 0,012$ ). Die negative Korrelation zu TEAC ( $r = -0,55$ ;  $p \leq 0,032$ ) weist auf eine Belastung des antioxidativen Systems in diesem Zeitraum hin.

Bei einer akuten Hyperlipidämie steigen die ASAT-Aktivitäten gemeinsam mit der GGT-Aktivität sowie der Harnstoff- und Creatinin-Konzentrationen infolge der Stoffwechsel- und Kreislaufbelastungen an (OIKAWA et al. 2006, DUNKEL et al. 2014). Auch bei Erkrankungen korreliert die ASAT mit der CK. Bei Pferden mit akuter Rhabdomyolyse treten ASAT-Aktivitäten von über 1.500 U/l auf, verbunden mit CK-Aktivitäten bis über 900.000 U/l (FINNO et al. 2006). Während einer proximalen Enteritis treten signifikante Aktivitätserhöhungen von ASAT, GGT und AP auf, da diese Pferde für das Auftreten von Leberschädigungen prädisponiert sind (DAVIS et al. 2003). WILLIAMS und BURK (2012) wiesen einen belastungsabhängigen Anstieg der ASAT- und der CK-Konzentrationen bei Vielseitigkeitspferden nach.



### 5.2.3 *Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)*

Der Referenzbereich für Ponys wird mit 1,9 bis 33,3 U/l beschrieben (GIESELER 2012).

In dieser Studie scheint die GLDH-Aktivität bei Ponys sensibler als bei anderen Tierarten zu reagieren (Abbildung 10). Dadurch ergibt sich keine Normalverteilung. Die I. und III. Quartile der GLDH-Aktivitäten sind innerhalb des Referenzbereichs.

Die GLDH korreliert 24 Stunden ante partum negativ mit BHB ( $r = -0,54$ ;  $p \leq 0,040$ ) (Tabelle 16) als Hinweis auf den Cortisoleinfluss. Dies wird in den weiteren Korrelationen ante partum mit TP ( $r = -0,53$ ;  $p \leq 0,042$ ), AP ( $r = 0,52$ ;  $p \leq 0,047$ ) und GGT ( $r = 0,67$ ;  $p \leq 0,006$ ) bestätigt.

Bei einer Hyperlipidämie steigt die Aktivität der GLDH zusammen mit den TG sowie der ASAT, CK und AP deutlich an, während die Konzentration der Glucose sinkt (NAYLOR et al. 1980b, FÜRLI und SCHÄFER 1992a, DUNKEL et al. 2014). DURHAM et al. (2003) wiesen eine Korrelation der erhöhten ASAT- und GLDH-Aktivitäten bei Hepatopathien nach. Die GLDH-Aktivität ist auch bei subklinischer Grass sickness deutlich erhöht (MARRS et al. 2001). Bei einer Akute-Phase-Reaktion sinken die Aktivitäten von GLDH, AP, GGT, ASAT und CK, während die Leukozytenzahl und das TP ansteigen (MILLS et al. 1998).

### 5.2.4 *$\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase (GGT)*

Die Blutserumaktivitäten der GGT, eines der Cholestase-anzeigenden Enzyme, sind beim Pferd ein Indikator zur Abklärung von Leberfunktionsstörungen, die gegenüber den anderen Leberenzymen verzögert reagieren. Der Referenzbereich für Ponys wurde von GIESELER (2012) mit 12,8 bis 66,1 U/l neu definiert.

Die GGT-Aktivitäten haben einen ähnlichen Kurvenverlauf wie die der GLDH (Abbildung 11). Auch die GGT zeigt ante partum einen signifikanten Abfall, der post partum nur leicht wieder ansteigt. Die I. und III. Quartile bewegen sich innerhalb der physiologischen Grenzen. Der Zeitraum peripartal hat keinen gesicherten Einfluss auf die Aktivität der GGT.

Im Unterschied zu den vorliegenden Ergebnissen fanden MARIELLA et al. (2014) abweichende GGT-Aktivitäten bei Stuten peripartal. Anders verhält sich die GGT bei Erkrankungen der Leber und der Verdauungsorgane. Beim Vorliegen einer Hyperlipidämie steigen die Aktivität der GGT gemeinsam mit den TG, ASAT, GLDH, Harnstoff und Creatinin massiv an (OIKAWA et al. 2006, DUNKEL et al. 2014). DURHAM et al. (2003) wiesen bei leberkranken Pferden eine signifikante Erhöhung der GGT, des Gesamtbilirubins, der ASAT, der GLDH und der AP nach. Auch bei septischen Fohlen liegen erhöhte GGT- sowie ASAT-Aktivitäten im Serum vor (HAGGETT et al. 2011). GGT steigen zusammen mit TG und Gesamtbilirubin bei einer Kolik-OP und bleibt auch postoperativ erhöht (UNDERWOOD et al. 2010). GARDNER et al. (2005) begründeten dies damit, dass die Positionierung des Colons bei einer Dorsalverlagerung mit einer Kompression der Gallenwege und einer Obstruktion der extrahepatischen

Gallengangs verbunden sei, die bei einer Rechtsverlagerung noch deutlicher zum Ausdruck kommt. Im Gegensatz dazu besteht bei einer proximalen Enteritis eine deutliche Erhöhung der Leberenzyme (GGT, ASAT und AP) aufgrund von Endotoxämien, aufsteigenden Gallengangsinfektionen und Entzündungsmediatoren (DAVIS et al. 2003).

### 5.2.5 *Glucose*

Der Referenzbereich der Glucose für Ponys wurde durch FÜRLI und FIEDLER (1992) von 4,6 bis 6,3 mmol/l bestimmt.

In vorliegender Untersuchung bewegten sich die Glucose-Konzentrationen zwischen 3,5 und 6,8 mmol/l. Unmittelbar ante partum steigt die Glucose stressbedingt signifikant an (Abbildung 12). Post partum sind die Stuten schnell wieder in der Lage, diese Auslenkung zu kompensieren.

Die negative Korrelation der Glucose mit BHB ( $r = -0,41$ ;  $p \leq 0,001$ ) dokumentiert den grundlegenden Pathomechanismus zwischen den beiden Parametern (Tabelle 18). Die enge Korrelation der Glucose zu den TG ( $r = 0,68$ ;  $p \leq 0,006$ ) zum 3. Untersuchungszeitpunkt ergibt sich aus dem signifikanten Abfall beider Konzentrationen post partum. Die Korrelation zu Creatinin ( $r = 0,59$ ;  $p \leq 0,022$ ) zum 3. Untersuchungszeitpunkt direkt post partum ist ergibt sich aus dem signifikanten Abfall beider Konzentrationen p. p.

Der ermittelte Konzentrationsverlauf bestätigt das in der Literatur beschriebene typische Verhalten der Glucose bei Shetlandponys. Auch HEIDLER et al. (2004) beobachteten diesen markanten Kurvenverlauf der Glucose mit einem signifikanten Anstieg post partum und anschließender niedrigerer Konzentration während der Laktation im Vergleich zu nicht laktierenden Stuten, was auf eine Energieabgabe an die Milch hinweist. Bei günstigen Großpferdstuten bewegte sich die Glucose-Konzentration zwischen  $\bar{x} \pm s = 4,4$  und 5,3 mmol/l, dagegen bei laktierenden zwischen  $\bar{x} \pm s = 3,9$  und 4,1 mmol/l. Möglicherweise besteht hier ein Zusammenhang mit den Veränderungen des Hormonhaushalts der Stute peripartal. Das Leptin ist bei laktierenden Stuten bis zu 10 Wochen p. p. signifikant niedriger (HEIDLER et al. 2003). Es wird hauptsächlich von den Adipozyten, aber auch von der Plazenta exprimiert. Es ist ein wirksamer Gegenspieler des Glukagon und wirkt glucosesenkend. Das GH (STH) wird bei jeder energiezehrenden Situation aus der Hypophyse freigesetzt und ist bei trächtigen sowie laktierenden Stuten bis zwölf Wochen p. p. signifikant höher (HEIDLER et al. 2003). Es wirkt lipolytisch und stimulierend auf die Expression des IGF-1 sowie fördernd auf die Glykogenolyse und damit Erhöhung des Glucosespiegels. Pferde weisen einen relativ hohen Blutglucosespiegel auf, da sie ihren Glucosebedarf größtenteils durch intestinale Absorption decken und nicht auf hepatische Glukoneogenese angewiesen sind (HACKER 2004).

Aus pathogenetischer Sicht sollten bei der Hyperlipidämie der Ponys und insbesondere beim EMS infolge verminderter Insulinwirksamkeit erhöhte Glucosekonzentrationen zu erwarten sein (GOLDSTEIN et al. 2006, HOUSTIS et al. 2006, BELKNAP et al. 2007, VICK et al. 2007, ADAMS et al. 2009, TREIBER

et al. 2009, UNGRU et al. 2012, VALLE et al. 2013, WRAY et al. 2013), d. h., Glucose-Konzentrationen über dem Referenzbereich von 4,6 bis 6,3 mmol/l (FÜRLLE und FIEDLER 1992) (Tabelle 2). KRONFELD et al. (2006) analysierten den metabolischen Status bei Ponys mit subklinischer Hufrehe und beschrieben zwar gesteigerte Insulin-, aber normale Glucose-, FFS-, TG- sowie Cortisol-Konzentrationen. Die bestehende Insulinresistenz wird bei diesen Tieren durch eine erhöhte Insulinsekretion ausgeglichen. Die TG werden bei Einzeltieranalytik als variabel in Abhängigkeit vom BCS beschrieben.

Auch bei erkrankten Pferden ist die Glucose ein sensibler Parameter. Energiearmes Futter oder verminderte Futteraufnahme bei Krankheiten führt zur Erniedrigung. Im Verlauf einer Hyperlipidämie sinkt die Glucose-Konzentration, während die Werte der TG, FFS, ASAT, GLDH, CK und AP steigen (NAYLOR et al. 1980a). Allerdings weisen hohe Glucosespiegel auf eine ungünstige Prognose hin (FÜRLLE und SCHÄFER 1992a). Sie fanden bei Hyperlipidämie-Ponys Unterschiede in Abhängigkeit vom Ausgang der Krankheit; bei später geheilten Ponys betrug die Glucose-Konzentration bei der Erstkontrolle  $4,43 \pm 1,67$  mmol/l, bei Ponys mit Exitus letalis  $9,24 \pm 7,36$  mmol/l. Bei energetisch übersorgten Ponys beschrieben FÜRLLE und FIEDLER (1992) die Glucose-Konzentration mit  $3,14 \pm 0,24$  mmol/l gegenüber bedarfsgerecht versorgten mit  $5,50 \pm 0,96$  mmol/l ( $p < 0,001$ ). Dies kann die Folge höherer Insulin-Konzentrationen sein, die FÜRLLE und SCHÄFER (1992a) bei adipösen Ponys (0,49 nmol/l) gegenüber mäßig ernährten (0,24 nmol/l) beschrieben. Die Abhängigkeit metabolischer sowie Milchparameter vom Ernährungszustand wurde auch von DOREAU et al. (1993) beobachtet. Energiearmes Futter oder verminderte Futteraufnahme bei Krankheiten führt zu Glucoseabfall. Diesem pathophysiologischen Mechanismus entspricht in vorliegender Studie die 12-16 Stunden p. p. berechnete negative Korrelation der Glucose mit den Leukozytenzahl ( $r = -0,57$ ;  $p \leq 0,035$ ). VAN WEYENBERG et al. (2008) beobachteten bei Ponys mit reduziertem Nahrungsangebot eine Verringerung der Glucose-Konzentration, die sie mit der gesteigerten Insulinsensitivität begründeten. Starke Belastungen, Stress sowie Endotoxämien verursachen eine Erhöhung der Glucose-Konzentration. Während der Allgemeinanästhesie steigt z. B. die Glucose-Konzentration als Ausdruck der Stressreaktion (TAYLOR 1998).

## 5.2.6 *Alkalische Phosphatase (AP)*

GIESELER (2012) wies einen grundsätzlich höheren Referenzbereich für AP bei Shetlandponys als bei anderen Rassen, vor allem Sportpferden, nach und definiert diesen zwischen 96 und 370 U/l. Als Ursache kommt für die Autorin ein geringerer Trainingszustand in Betracht. FÜRLLE und FIEDLER (1992) beschreiben ihn mit 86 bis 195 U/l. Isoenzyme der AP sind vor allem im Knochen, aber auch in der Leber, in den Leukozyten, in den Enterozyten sowie in der Plazenta lokalisiert (TIMM 2008). Der Ernährungszustand hat bei Ponys keinen Einfluss auf die Höhe der AP-Aktivitäten (FÜRLLE und FIEDLER 1992).

Die AP-Aktivitäten verlaufen in dieser Studie zwischen 370 bis 1000 U/l (I./III. Quartile) ständig oberhalb der physiologischen Grenzen und sind nach erfolgter Konzeption placentationsbedingt am

höchsten. 24 Stunden a. p. sinken die AP-Aktivitäten signifikant. P. p. steigt die Aktivität der AP signifikant durch den Verlust der Secundinae (Abbildung 13).

Die leukozytäre AP ist am Endotoxinabbau beteiligt (PETZOLD 2001), gesicherte Korrelationen zwischen AP, Endotoxin, TEAC und Glucose bestehen in dieser Studie aber nicht (Tabelle 19).

Den Kurvenverlauf der AP ante und post partum beschrieben auch FILIPOVIĆ et al. (2010a), die einen Zusammenhang zwischen der Estradiolkonzentration und dem Knochenstoffwechsel der Stute erkennen konnten.

Im Gegensatz dazu beobachteten REBAR und METZGER (1999) in der Gravidität, ähnlich wie bei schweren Lebervergiftungen und Hyperthyreosen, eine Aktivitätserhöhung der AP. In vergleichenden Untersuchungen zwischen einer Kontrollgruppe und peripartalen Stuten wurden signifikante Unterschiede der AP-Aktivitäten bewiesen (MARIELLA et al. 2014).

Beim Vorliegen einer Hyperlipidämie steigen die Aktivitäten der AP sowie der CK verzögert nach der ASAT und der GLDH an. Auch die Konzentrationen an TG und FFS steigen deutlich an, während die Glucose sinkt (NAYLOR et al. 1980a, DUNKEL et al. 2014).

### 5.3 Protein- und Muskelstoffwechsel

Zur Beurteilung des Protein- und Muskelstoffwechsels wurden die Parameter TP, Albumin, Harnstoff, Creatinin und CK untersucht.

Bei den Ergebnissen der durchgeführten Faktorenanalysen über den gesamten Untersuchungszeitraum konnte jedoch kein eindeutiger Proteinstoffwechsel-Faktor extrahiert werden. Der 1., 2. und 3. Untersuchungszeitpunkt bis unmittelbar post partum lassen keine spezifische Parameter-Faktoren-Zuordnung erkennen. Zum 4. Untersuchungszeitpunkt ca. zwölf Stunden post partum zeigen einzelne Protein- und Muskelstoffwechselparameter in verschiedenen Faktoren hohe Ladungen (TP: 0,90; Harnstoff: 0,75; Creatinin: 0,90; CK: 0,81). Beim 5. Untersuchungszeitpunkt drei Wochen post partum sind in einem Faktor Harnstoff (0,78) und Creatinin (0,73) zusammen mit den Leukozyten (0,74) und GGT (0,80) hoch geladen. Dieser Faktor zeigt eine Varianzaufklärung von 21% an. Zu diesem Zeitpunkt ist der erhöhte Energiebedarf aufgrund des Abfohlens ausgeglichen, aber die massiv steigende Laktogenese stellt hohe Anforderungen an den Protein- und Leberstoffwechsel.

Bei der Auswertung der Korrelationstabellen (Tabelle 20 bis Tabelle 24) lassen sich bei der internen Betrachtung des Protein- und Muskelstoffwechsels mit seinen fünf Parametern fünf relevante Beziehungen finden. TP korreliert erwartungsgemäß mit Albumin ( $r = 0,43$ ;  $p \leq 0,001$ ) über den gesamten Untersuchungszeitraum (Tabelle 20), da Albumin den größten Anteil an der Gesamtproteinfraktion im Serum ausmacht. Albumin zeigt außerdem zwei weitere Korrelationen innerhalb seiner Gruppe (Tabelle 21): Harnstoff ( $r = -0,30$ ;  $p \leq 0,009$ ) und Creatinin ( $r = 0,69$ ;  $p \leq 0,004$ ), Harnstoff (Tabelle 22) korreliert zusätzlich mit Creatinin ( $r = -0,51$ ;  $p \leq 0,050$ ). Während erhöhter metabolischer Anforderungen, wie

beispielsweise peripartal, wird Albumin zur Deckung des Bedarfs teilweise verstoffwechselt, somit nimmt die Harnstoff-Konzentration als Endprodukt des Proteinabbaus relativ zu. Creatinin zeigt zusätzlich eine negative Korrelation zu CK ( $r = -0,35$ ;  $p \leq 0,002$ ), da beide Ausdruck intensiver Muskularbeit, wie beispielsweise während des Abfohlens, sind (Tabelle 23 und Tabelle 24).

### 5.3.1 *Totalprotein (TP)*

Für den Referenzbereich gibt es deutliche rassespezifische Unterschiede, wobei die Shetlandponys mit 67,3 bis 75,3 g/l die höchste Konzentration aufweisen (GIESELER 2012).

In der vorliegenden Studie liegen die TP-Konzentrationen im physiologischen Bereich. 24 Stunden a. p. sinkt die TP-Konzentration durch die relative Hydrämie signifikant ab (Abbildung 14).

Hinweise auf entzündungsbedingte TP-Reaktionen können aus den Korrelationen mit den Endotoxinen ( $r = 0,55$ ;  $p \leq 0,036$ ) zum 3. Untersuchungszeitpunkt p. p. abgeleitet werden (Tabelle 20). Über den gesamten Untersuchungszeitraum korreliert TP mit TEAC ( $r = 0,31$ ;  $p \leq 0,008$ ), was die Beziehungen zum antioxidativen Stoffwechsel über Albumin verdeutlicht (MILLER et al. 1993). Die positiven Korrelationen zu den Lipidstoffwechsel-Parametern TG ( $r = 0,54$ ;  $p \leq 0,038$ ) und BHB ( $r = 0,56$ ;  $p \leq 0,037$ ) p. p. können mit dem erhöhten Grundumsatz der Stuten durch die Laktogenese in Beziehung stehen.

Signifikante Unterschiede der TP-Konzentrationen bei Stuten peripartal gegenüber der Kontrollgruppe wiesen MARIELLA et al. (2014) nach. Gegensätzlich dazu verliefen Untersuchungen von HARVEY et al. (2005), bei denen TP, Albumin und Glucose während der Gravidität und Laktation relativ konstant bleiben und Harnstoff dann zur Laktation ansteigt. Bei Belastungen konnte auch SCHNERMANN (2000) einen Anstieg der TP-Konzentration im Plasma von Pferden feststellen. Bei Hyperlipidämie-kranken Ponys beschrieben DUNKEL et al. (2014) in Abhängigkeit von den Grundkrankheiten variable TP-Konzentrationen.

### 5.3.2 *Albumin*

Albumin hat mit etwa 51–59% den größten Anteil an der TP-Konzentration im Serum von Pferden. Der Referenzbereich für Albumin wird in der Literatur zwischen 23,3 bis 37,7 g/l beschrieben (GIESELER 2012).

Die Albumin-Konzentrationen haben eine gleichartige Dynamik wie das TP. Post partum sind die Konzentrationen nahezu konstant (Abbildung 15). Offensichtlich haben die späte Gravidität, Partus und Laktation kaum Einfluss auf den Serumgehalt an Albumin.

Die Korrelation von Albumin zu Gesamtbilirubin ( $r = 0,27$ ;  $p \leq 0,018$ ) über den gesamten Messzeitraum ist durch die Transportfunktion des Albumins bedingt (Punkt 5.2.1) und ist zum

4. Untersuchungszeitpunkt ca. zwölf Stunden p. p. am deutlichsten ( $r = 0,65$ ;  $p \leq 0,008$ ). Die Korrelation von Albumin mit Gesamtbilirubin wurde bereits von POPOV und LEWIN (1994) beschrieben. Albumin korreliert über den gesamten Messzeitraum (Tabelle 21) positiv mit Cholesterol ( $r = 0,32$ ;  $p \leq 0,006$ ). Dies kann durch die Koppelung beider Parameter an den Lipoproteinstoffwechsel bedingt sein. Außerdem sind beide Parameter abhängig von der Nahrungsaufnahme. Die positive Korrelation zum Lipidstoffwechsel-Parameter TG ( $r = 0,72$ ;  $p \leq 0,003$ ) wurde bei den Totalproteinen bereits erläutert (Punkt 5.3.1).

Das Verhalten des Albumins wird in der Literatur bestätigt. Albumin, TP und Glucose bleiben während der Gravidität und Laktation relativ konstant, Harnstoff steigt dann zur Laktation an (HARVEY et al. 2005). Die Konzentration des Albumins wurde auch zur Einschätzung der Endotoxin-Neutralisationskapazität bestimmt. Eine Auseinandersetzung des Organismus mit Bakterien und Endotoxinen im Rahmen der Akute-Phase-Reaktion führt zur Abnahme der Albumin-Konzentration (GRUYS et al. 2005). METCALFE et al. (2013) bestätigen dies in ihren Untersuchungen an hospitalisierten Pferden: Eine deutliche Hypoproteinämie, verbunden mit einer Hypoalbuminämie senkt die Überlebenswahrscheinlichkeit bei Erkrankungen des Gastrointestinaltrakt.

### 5.3.3 *Harnstoff*

Der Referenzbereich für Harnstoff bei Ponys wird in der Literatur zwischen 3,9 und 9,2 mmol/l beschrieben (GIESELER 2012).

Die Konzentrationen des Harnstoffs steigen p. p. signifikant an und verbleiben auf diesem erhöhten Niveau (Abbildung 16). Die Werte befinden sich innerhalb des Referenzbereichs.

Die hohen negativen Korrelationen (Tabelle 22) zur Glucose ( $r = -0,67$ ;  $p \leq 0,009$ ) und Bilirubin ( $r = -0,33$ ;  $p \leq 0,004$ ) ergeben sich aus dem gesteigerten Proteinstoffwechsel während der zunehmenden Laktogenese (Punkte 5.2.1 und 5.2.5). Auch die Korrelationen zu den Lipidstoffwechsel-Parametern TG ( $r = -0,61$ ;  $p \leq 0,016$ ), BHB ( $r = 0,23$ ;  $p \leq 0,048$ ) und Cholesterol ( $r = 0,56$ ;  $p \leq 0,037$ ) können mit dem gesteigerten Energieumsatz peri- und postpartal in Verbindung gebracht werden (Punkt 5.2). Harnstoff korreliert über den gesamten Untersuchungszeitraum kreislaufassoziiert mit Leukozyten ( $r = 0,36$ ;  $p \leq 0,002$ ).

Der Kurvenverlauf der Harnstoff-Konzentrationen wird in der Literatur bestätigt. TP, Albumin und Glucose bleiben während der Gravidität und Laktation relativ konstant, Harnstoff steigt dann zur Laktation an (HARVEY et al. 2005).

Im Vergleich dazu konnten in Untersuchungen bei an Rhabdomyolyse erkrankten Araberpferden EL-DEEB und EL-BAHR (2010) deutlich erhöhte Harnstoffkonzentrationen bei forciertem Muskelabbau beobachten. Bei einer Hyperlipidämie ist den Fallberichten von DUNKEL et al. (2014) kein charakteristisches Verhalten des Harnstoffs zu entnehmen.

### 5.3.4 *Creatinin*

Creatinin ist ein Produkt des endogenen Muskelstoffwechsels. Der Referenzbereich für Creatinin wird in der Literatur zwischen 44 und 120  $\mu\text{mol/l}$  (GIESELER 2012) bzw. 82 bis 108  $\mu\text{mol/l}$  (FÜRLI und FIEDLER 1992) beschrieben.

In dieser Studie bewegen sich die Creatinin-Konzentrationen zwischen 85 und 130  $\mu\text{mol/l}$  mit nur geringen Schwankungen (Abbildung 17).

Creatinin korreliert über den gesamten Untersuchungszeitraum deutlich mit den Parametern des Lipidstoffwechsels (Tabelle 23). Besonders eng sind die Korrelationen einen Tag a. p. zu TG ( $r = 0,81$ ;  $p \leq 0,001$ ) (Punkt 5.1.1) und Cholesterol ( $r = 0,80$ ;  $p \leq 0,001$ ) (Punkt 5.1.2). Die Korrelation des Creatinins einen Tag a. p. mit TEAC ( $r = 0,53$ ;  $p \leq 0,004$ ) erklärt sich die Geburtsbelastung mit oxidativen Stress und Muskularbeit. Die Korrelation zur Glucose ( $r = 0,59$ ;  $p \leq 0,022$ ) reflektiert den gleichen pathophysiologischen Hintergrund (Punkt 5.2.5).

Die Zunahme der Creatinin-Konzentration a. p. wird in der Literatur bestätigt (HARVEY et al. 2005). FÜRLI und FIEDLER (1992) beschreiben Creatinin-Differenzen in Abhängigkeit vom Ernährungszustand mit  $95,0 \pm 11,6 \mu\text{mol/l}$  bei bedarfsgerecht und  $55,0 \pm 38,5 \mu\text{mol/l}$  bei überversorgten Ponys. Auch nach einem standardisierten Belastungstest wurde eine Erhöhung der Creatinin-Konzentration nachgewiesen (ALBERGHINA et al. 2011). Bei der mit deutlichem Anstieg der TG-Konzentration verbundenen verstärkten Hyperlipidämie kann es ebenfalls zu einem Anstieg des Creatinins kommen (DUNKEL und McKENZIE 2003). DUNKEL et al. (2014) beschreiben bei Hyperlipidämie-Ponys variable, überwiegend normale Creatinin-Konzentrationen.

### 5.3.5 *Creatinkinase (CK)*

Der Referenzbereich für CK wird in der Literatur zwischen 168 und 880 U/l beschrieben, wobei rasseabhängige Unterschiede bestehen (GIESELER 2012). Die hier ermittelten CK-Aktivitäten befinden sich bei relativ großer Streuung zwischen 225 bis 675 U/l (I./III. Quartil) im physiologischen Bereich. Die Mediane liegen enger zwischen 350 und 440 U/l beieinander mit Ausnahme der Kontrolle 24 Stunden a. p. (Abbildung 18), bei der eine cortisolbedingte signifikante Erniedrigung besteht.

Die CK korreliert gesichert mit den TG ( $r = -0,39$ ;  $p \leq 0,001$ ), der ASAT ( $r = 0,58$ ;  $p \leq 0,023$ ) und den FFS ( $r = 0,67$ ;  $p \leq 0,007$ ) (Tabelle 24). Diese Parameter werden offensichtlich über den antepartalen Cortisolanstieg mit der Membranstabilisierung (CK, ASAT) beeinflusst (FOWDEN et al. 2008). Die enge negative Korrelation der CK zur TEAC ( $r = -0,73$ ;  $p \leq 0,002$ ) signalisiert den belastungsbedingten oxidativen Stress (SATTLER und FÜRLI 2004). Der postpartale CK-Aktivitätsanstieg wurde auch von MARIELLA et al. (2014) beobachtet. Die CK kann bei Veränderungen Hinweise auf Muskelschäden geben.

Bei Pferden mit akuter Rhabdomyolyse treten CK-Aktivitäten bis über 900.000 U/l auf, verbunden mit einer ASAT-Aktivität von über 1.500 U/l (FINNO et al. 2006).

### 5.4 Leukozyten

Der Referenzbereich für die Leukozytenzahl beträgt nach GIESELER (2012) bei Ponys 5,5 bis 12,9 G/l.

In dieser Studie steigen die Leukozytenzahlen post partum signifikant an und verbleiben im gesamten Untersuchungszeitraum auf diesem erhöhten Niveau. Der signifikante Anstieg der Leukozyten bis zum 3. Untersuchungszeitpunkt zwölf Stunden p. p. (Abbildung 19) spiegelt den typischen Geburtsstress, die hohe Resorptionsleistung inklusive der Entzündungsvorgänge im Uterus sowie der bakteriellen Besiedelung der Lochien und Plazenta postpartal wider.

Die Leukozytenzahl korreliert gesichert mit dem Cholesterol ( $r = 0,56$ ;  $p \leq 0,039$ ) und den TG ( $r = -0,25$ ;  $p \leq 0,031$ ) (Tabelle 25). Eine funktionelle Verbindung zwischen diesen Parametern ist über die Endotoxine bzw. proinflammatorische Zytokine denkbar (PEVEC 2007), jedoch konnte keine gesicherte Korrelation zur Endotoxin-Konzentration errechnet werden. Ähnliches trifft für die Glucose-Konzentration zu, die sinnvoll negativ mit der Leukozytenzahl korrelierte ( $r = -0,57$ ;  $p \leq 0,035$ ).

Der peripartale Kurvenverlauf der Leukozytenzahlen wird von anderen Autoren bestätigt (SATUÈ et al. 2010). Die Autoren beobachteten eine erniedrigte Leukozytenzahl während der Gravidität bis kurz vor dem Geburtszeitpunkt. Die Leukozytenzahl steigt signifikant post partum an (MARIELLA et al. 2014). Eine Leukopenie infolge Adhäsion sowie Auswanderung von Leukozyten aus der Zirkulation gehört zu den typischen Reaktionen bei septikämischen Prozessen (GEERDES-FENGGE et al. 1994, VOLK et al. 1999, PATERSON et al. 2000, COHEN et al. 2002, BAUER et al. 2006). DUNKEL et al. (2014) beschreiben normale hämatologische Befunde bei Ponys mit Hyperlipidämie. Im Gegensatz dazu tritt eine Leukopenie bei Pferden mit Strangulationsileus auf (KYAW et al. 2008), was die Autoren mit der Pathogenese eines systemischen inflammatorischen Response-Syndroms in Verbindung bringen. CUDMORE et al. (2013) beschreiben eine Aktivierung der Leukozyten durch proinflammatorische Zytokine als Reaktion auf Endotoxine. In einer Studie an Distanzpferden konnte eine signifikante positive Korrelation zwischen der Leukozytenzahl und der Serumaktivität der CK nachgewiesen werden, womit das Ausmaß der Muskelschäden gekennzeichnet wird (SERTEYN et al. 2010).



## 5.5 Endotoxine

Der Referenzbereich der Endotoxine ist mit  $< 0,125$  EU/ml definiert (FRITSCHKE et al. 2000).

Bei den untersuchten Ponystuten wird dieser einen Tag a. p., an dem auch die TG einen Peak aufweisen, signifikant überschritten (Abbildung 20). Berücksichtigt man, dass weiterhin zu diesem Zeitpunkt auch die Albumin-Konzentration, die AP-Aktivität sowie die Leukozytenzahl ein Minimum aufweisen, kann dies als Hinweis auf reduzierte Endotoxinneutralisation mit einer erhöhten Endotoxinkonzentration aufgefasst werden.

Infolge des stärkeren Endotoxineinflusses wird der antioxidative Status belastet (DINGES 2004). Diese potentiellen Wechselbeziehungen mit den Antioxidantien sind durch die TEAC-Konzentrationen analytisch ausgewiesen, die allerdings nur zum ersten ( $r = -0,60$ ;  $p \leq 0,023$ ) und fünften Kontrollzeitpunkt ( $r = 0,61$ ;  $p \leq 0,021$ ) gegensätzlich gesichert waren (Tabelle 26). Immerhin stellt die erhöhte Endotoxinkonzentration 24 Stunden a. p. eine Risikosituation dar, die sich bei stärkeren Belastungen der Ponys aufschaukeln könnte.

Die scheinbar zu wenig differenzierenden, dabei geringe Varianzaufklärungen ergebenden Korrelationen für Endotoxine werden einer Regressionsanalyse unterzogen (Tabelle 26), bei der die Endotoxine als abhängige Variable im Fokus stehen. Diese Analyseform wird auf alle Untersuchungszeitpunkte ausgedehnt, im Folgenden ist lediglich ein ausgewähltes Ergebnis dargestellt. Endotoxin wird über den gesamten Untersuchungszeitraum von Harnstoff ( $\beta$ -Gewicht = 0,35) und AP ( $\beta$ -Gewicht = -0,25) vorhergesagt (Tabelle 26), bei einem multiplen Regressionskoeffizient von 0,43. Die inhaltliche Relevanz zur AP ist durch ihre Eigenschaft zur Endotoxin-Neutralisation erklärbar. Das Bestimmtheitsmaß verändert sich über die einzelnen Untersuchungszeitpunkte, z. B. wird Endotoxin zum 4. Untersuchungszeitpunkt post partum nur von Cholesterol ( $\beta$ -Gewicht = 0,89) vorhergesagt. Die Regressionsanalyse zeigt keinen Zusammenhang zu den Parametern des Lipidstoffwechsels. Bei gesunden Shetlandpony-Stuten führt die geburtsbedingte Lipolyse anscheinend entweder zu keiner vermehrten Endotoxin-Freisetzung oder die Endotoxin-Clearance erreicht nicht ihre Kapazitätsgrenze.

Die Auswertung der Endotoxin-Konzentrationen ist vor einem methodenkritischen Hintergrund zu sehen. Die Bestimmung der Endotoxine erfolgt nicht ausreichend sensibel für eine statistische Auswertung. Für die Ponys besitzen Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze des Labors (0,0675 EU/ml) keine klinische Bedeutung. Für eine statistische Auswertung wäre jedoch eine höhere Sensibilität bzw. Sensitivität wünschenswert, allerdings verringert sich mit der hier angewandten Methode die Varianz. Die Variabilität ist jedoch entscheidend für die Datenqualität. Bei der vorliegenden Untersuchung sind ca. 80% der gemessenen Endotoxin-Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze.

Der Nachweis einer Endotoxämie ist in der Human- und in der Veterinärmedizin gleichermaßen mit Schwierigkeiten verbunden. Der LAL-Test stammt aus den siebziger Jahren und wurde von FRITSCHKE

(1998) zum Nachweis von freiem Endotoxin modifiziert. Dabei erfolgt der Test auf Pyrogenität, wobei er aber nicht die Pyrogene von Gram-positiven Bakterien und Pilzen (= Nicht-Endotoxin-Pyrogene) erfasst.

Dieser Test misst die Koagulation eines aus Blutzellen des Pfeilschwanzkrebses gewonnenen Lysates, ausgelöst durch Endotoxin (LPS). Obwohl die Anbieter kommerzieller LAL-Tests (z. B. die Firma BioWhittaker, Walkersville, USA) darauf hinweisen, dass diese nicht für den Nachweis einer Endotoxämie vorgesehen sind, stellte dieses Verfahren lange Zeit trotz Entwicklung alternativer Methoden neben der bakteriologischen Untersuchung weltweit das einzige routinemäßig angewandte Nachweissystem für endotoxämische Zustände dar. Bei Anwendung des LAL-Tests ist immer wieder zu beobachten, dass Ergebnisse verschiedener Untersuchungseinrichtungen nicht oder nur mit Einschränkung vergleichbar sind.

Im Mittelpunkt dieser Diskrepanzen stehen falsch-positive Ergebnisse, d. h. Proben, in denen nativ kein Endotoxin nachgewiesen werden kann, aktivieren unter bestimmten Umständen die Lysatreaktion. BRIGHAM und MEYRICK (1986) wiesen eine geringe Halbwertszeit von Endotoxinen nach. Wenige Stunden nach einem akuten Endotoxin-Eintrag ist freies Endotoxin aufgrund Endotoxin-neutralisierender Faktoren nicht mehr detektierbar.

Daraus ergibt sich die Notwendigkeit eines einheitlichen Handlings beim LAL-Test. Die wichtigsten bekannten beeinflussenden Faktoren sind Temperatur, pH-Wert und Kationen-Konzentration. Wahrscheinlich führt die verstärkte thermische Vorbehandlung zu einer veränderten biologischen Aktivität der Endotoxine (THORNE et al. 2010).

Heute ist ein ELISA dem LAL-Test vorzuziehen (FLOCKE 2012).

## 5.6 TEAC

Mit der steigenden Bedeutung proinflammatorischer Zytokine für die Krankheitspathogenese u. a. der Hufrehe gewinnen auch Antiinflammatorika einschließlich Antioxidantien an praktischer Bedeutung (TREIBER et al. 2009, FARNEY et al. 2013). Die TEAC als ein Summenparameter kann analytisch zur Bewertung des antioxidativen Status auch bei Pferden genutzt werden (WINTER 2009). Die TEAC-Konzentrationen befinden sich innerhalb des Referenzbereichs von 180 bis 340 mmol/l (MILLER et al. 1996, WINTER 2009) und zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten, jedoch ist ein tendenzieller Abfall a. p. sowie ein tendenzieller Anstieg p. p. erkennbar (Abbildung 21). Somit hat der peripartale Zeitraum kaum einen Einfluss auf die TEAC-Konzentration bei Ponystuten, wie dies ausgeprägt bei Kühen zu beobachten ist (HAGEN und FÜRL 2010).

Gesicherte Korrelationen konnten für die TEAC bei einzelnen Kontrollen mit den Endotoxinen, dem Creatinin, der GGT sowie der ASAT berechnet werden (Tabelle 27). Negative Beziehungen zwischen der TEAC und den Endotoxinen post conceptionem lassen auf einen höheren Antioxidantienverbrauch oder -mangel schließen. Die Beziehungen zur GGT ( $r = 0,66$ ;  $p \leq 0,007$ ) deuten auf Wechselbeziehungen bei der

Leberververfettung hin (PERRY et al. 1998, LEE et al. 2003). Ebenso besteht eine positive Korrelation zwischen Creatinin und TEAC ( $r = 0,53$ ;  $p \leq 0,041$ ). Wie unter 5.3.4 erläutert, steigt die Creatinin-Konzentration zur Abfohlung an und fällt post partum rasch wieder ab. Die TEAC-Konzentrationen steigen tendenziell als Reaktion auf oxidativen Stress während des Partus bei erhöhtem Anfluten von freien Radikalen ebenfalls an. Die negativen Korrelationen zwischen der TEAC und den Muskelenzymen CK ( $r = -0,73$ ;  $p \leq 0,002$ ) sowie ASAT ( $r = -0,55$ ;  $p \leq 0,032$ ) basieren auf den Beziehungen zwischen Membranstabilität sowie antioxidativem Status (SATTLER und FÜRL 2004).

Die Regressionsanalyse für die TEAC als abhängige Variable ergab, dass die TEAC-Konzentration von der Leukozytenzahl ( $\beta$ -Gewicht = 0,35), der TP- ( $\beta$ -Gewicht = 0,44) und Bilirubin-Konzentration ( $\beta$ -Gewicht = 0,62) abgeschätzt werden kann. Die Variabilität dieser Parameter sagt die Veränderung der TEAC mit einem multiplen Regressionskoeffizienten von 0,57 voraus. Die Beziehungen zwischen der TEAC und den Leukozyten basieren auf den immunologischen Grundvorgängen (GEERDES-FENGE et al. 1994, VOLK et al. 1999, PATERSON et al. 2000, COHEN et al. 2002, BAUER et al. 2006).

Der Kurvenverlauf der TEAC-Konzentrationen bestätigt Untersuchungen von GÜCK (1998). Er hat bei Shetlandponys festgestellt, dass insbesondere Hochträchtigkeit und Laktation zu Vitamin-A-Mangelsituationen führen können, woraus eine verminderte antioxidative Kapazität resultieren kann. Gleichmaßen zeigte WINTER (2009), dass eine negative Energiebilanz, die durch Hungern entstanden ist, zu mehr Radikalen führt, welche zu einem Verbrauch der Antioxidantien führen können. Auch REY et al. (2013) stellten einen signifikanten TEAC-Abfall bei Rennpferden nach Belastung fest, die nicht zusätzlich mit Vitamin E versorgt worden sind. Sie führen dies auf den Verbrauch von Antioxidantien und somit auf oxidativen Stress zurück.

Dem gegenüber stehen Untersuchungen von BRINCKER (2004) an Galopprennpferden, die keine signifikanten Änderungen der TEAC-Konzentration vor und nach Belastung aufweisen.

Die hier festgestellte negative Korrelation zwischen TEAC und CK beschrieb auch EL-ASHKER (2011) bei Pferden mit akuter Rhabdomyolyse, was er auf die Nierenschädigung durch den erhöhten oxidativen Stress zurückführt. WILLIAMS et al. (2004) konnten ebenfalls eine negative Korrelation von TEAC zu CK bei Untersuchungen an Distanzpferden mit oder ohne Supplementierung von Vitamin E aufzeigen, ebenso wie eine Erhöhung der CK- und ASAT-Aktivitäten sowie der Leukozytenzahl in Abhängigkeit des antioxidativen Status der Pferde.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

Verfasser:	Jana Kirsten
Titel:	Stoffwechseluntersuchungen bei trächtigen, fohlenden sowie laktierenden Shetlandponys
Klinik:	Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
Eingereicht:	Juli 2014
Bibliographische Angaben:	101 Seiten, 22 Abbildungen, 27 Tabellen, 352 Literaturangaben, 2 Anhänge
Schlüsselwörter:	Shetlandpony, Stoffwechsel, Hyperlipidämie, Endotoxin, Antioxidantien

**Problem:** Die Hyperlipidämie der Ponys ist eine schwerwiegende Erkrankung, die nicht selten letal endet. Eckpunkt der Pathogenese ist die Insulinresistenz in Verbindung mit proinflammatorischen Zytokinen sowie Antioxidantien. Wenn einerseits die grundlegenden pathophysiologischen Abläufe bekannt sind, gelingt nicht immer eine erfolgreiche Therapie. Es ist auch nicht bekannt, inwieweit der Übergang von der Trächtigkeit zur Laktation ätiologische Risiken birgt.

**Zielstellung:** Ziel dieser Studie war es zu prüfen, inwieweit bei Shetlandponystuten der Übergang von der Hochträchtigkeit über das Abfohlen zur Säugeperiode Risiken für die Hyperlipidämie birgt. Neben den Parametern des Energie-Fett-Leberstoffwechsels wurde auch analysiert, ob bei Endotoxinen und Antioxidantien (TEAC) belastende Veränderungen in diesem Zeitraum auftreten, die eine gesteigerte Fettmobilisation begünstigen.

**Versuchsanordnung:** Es wurden 15 gesunde, gut genährte Shetlandpony-Stuten ohne Fohlen bei Fuß ca. vier bis acht Wochen nach der erfolgreichen Bedeckung, maximal 24 Stunden (h) ante partum (a. p.), maximal vier Stunden, 12-16 Stunden und drei Wochen post partum (p. p.) klinisch untersucht und Blutproben (Vena jugularis externa) entnommen. Im Blutserum wurden die Parameter Triacylglycerole (TG), Freie Fettsäuren (FFS), Cholesterol,  $\beta$ -Hydroxy-Butyrat (BHB), Glucose, Gesamtbilirubin, Aspartat-Amino-Transferase (ASAT), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH),  $\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase (GGT), Alkalische Phosphatase (AP), Totalprotein (TP), Albumin, Harnstoff, Creatinin, Creatinkinase (CK), Endotoxin sowie der antioxidative Summenparameter TEAC untersucht.

**Ergebnisse:** Trächtigkeit, Abfohlen sowie Säugeperiode verliefen bei den Stuten physiologisch. Unter den Blutbefunden waren die Hauptveränderungen bei den TG und FFS sowie bei den Endotoxinen und bei der CK 24 h a. p. zu beobachten.

Die TG waren mit  $\bar{x} = 0,18$  mmol/l (0,15-0,38 mmol/l I. bis III. Quartil) 4–8 Wochen (Wo) post conceptionem (p. c.) bereits erhöht und stiegen bis 24 h a. p. auf  $\bar{x} = 0,27$  mmol/l (0,16–0,44 mmol/l) ( $p \leq 0,05$ ); ab 4 h p. p. bis 3 Wo p. p. bewegten sie sich zwischen  $\bar{x} = 0,14$  und  $\bar{x} = 0,19$  mmol/l auf gleichem Niveau. Die TG korrelierten am engsten und häufigsten mit Cholesterol (0,66), Albumin (0,58), Creatinin

(0,81) und Harnstoff (-0,61), was vor allem aus deren Zusammensetzung resultiert. Die TG-Konzentrationssteigerung direkt vor dem Abfohlen ist durch den Cortisolanstieg zum Partus erklärbar.

Die Mediane der FFS-Konzentrationen lagen 4-8 Wo p. c. sowie 4 h p. p. bei  $\bar{x} = 128 \mu\text{mol/l}$  (95-197  $\mu\text{mol/l}$ ), sanken 24 h a. p. auf  $\bar{x} = 75 \mu\text{mol/l}$  (64-198  $\mu\text{mol/l}$ ) und pegelten sich von 12-16 h bis 3 Wo p. p. bei  $\bar{x} = 80 \mu\text{mol/l}$  (70-100  $\mu\text{mol/l}$ ) ein. Die FFS-Korrelationen mit Bilirubin (0,35) und Creatinin (0,35) basieren auf den pathophysiologischen Beziehungen, ohne dass damit ätiologische Bezüge ausgewiesen werden.

Die Glucose-Konzentrationen waren immer im Referenzbereich. Die höchsten Konzentrationen bestanden partusbedingt 4 h (5,24  $\pm$  1,39 mmol/l) bis 12-16 h p. p. (4,92  $\pm$  1,67 mmol/l). Die Beziehungen der Glucose zum Energiestoffwechsel werden durch gesicherte Korrelationen zu BHB (-0,41) und der AP (-0,29) sichtbar. Beziehungen zu den FFS oder Endotoxinen sind statistisch nicht gesichert.

Die CK-Aktivitäten schwankten im Kontrollzeitraum zwischen  $\bar{x} = 330$  bis 420 U/l (300-500 U/l); 24 h a. p. lagen sie mit  $\bar{x} = 277$  U/l (197-334 U/l) als potentielle Folge der partusbedingten Cortisolsteigerung signifikant niedriger. Das Abfohlen an sich führt zu moderater CK-Aktivitätssteigerung.

Die Harnstoff-Konzentrationen zeigten einen signifikanten Anstieg von 4-8 Wo p. c. mit  $\bar{x} = 5,75 \pm 1,01$  mmol/l bis auf  $\bar{x} = 6,42 \pm 1,10$  mmol/l 3 Wo p. p. Gesicherte Korrelationen des Harnstoffs zum BHB machen die Stoffwechselsteigerung p. p. für den Konzentrationsanstieg wahrscheinlich. Die Bilirubin-Konzentration nimmt von 12 auf 8  $\mu\text{mol/l}$  im Kontrollverlauf ab, ebenso die AP-Aktivitäten von 780 auf 580 U/l und ASAT-Aktivitäten von 395 auf ca. 300 U/l. Die GGT- sowie GLDH-Aktivitäten sind zu Beginn der Untersuchungen mit 17 bzw. 6 U/l niedrig und steigen bei der letzten Kontrolle 3 Wo p. p. um ca. 50% signifikant, aber immer noch im physiologischen Bereich, an. Eine stärkere Leberbelastung lässt sich aus diesen Parametern nicht ableiten.

Die Endotoxin-Konzentrationen sind p. p. am niedrigsten und an der Nachweisgrenze. Die signifikante Konzentrationssteigerung 24 h a. p. lässt an Beziehungen zu den gesteigerten TG und den erniedrigten FFS sowie der CK als Folge der ansteigenden Cortisol-Konzentration vor dem Partus denken. Gesicherte Korrelationen bestehen vor allem zu den Antioxidantien (TEAC), d. h., dass die Endotoxine den antioxidativen Status belasten.

Die Cholesterol-, TP-, Albumin-, Creatinin- sowie TEAC-Konzentrationen blieben im gesamten Untersuchungszeitraum praktisch physiologisch konstant.

**Schlussfolgerungen:** Gesunde, gut genährte Shetlandponystuten zeigen während der Trächtigkeit, dem Abfohlen und in der Säugeperiode einen stabilen Stoffwechsel. Eine stärkere Belastung wird 24 h vor dem Partus anhand der TG und Endotoxine erkennbar, die offensichtlich Folge der steigenden partusinduzierenden Cortisol-Konzentration sind.

## 7 SUMMARY

Author: Jana Kirsten  
 Title: Metabolic studies in pregnant, parturient and lactating Shetland ponies  
 Clinic: Large Animal Clinic for Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine,  
 University of Leipzig  
 Submitted: in July 2014  
 Bibliographic Data: 101 pages, 22 figures, 27 tables, 352 references, 2 appendices  
 Keywords: Shetland pony, Parturition, Metabolism, Endotoxin, TEAC

**Problem:** The hyperlipidemia in Shetland ponies is a serious disease and often ends lethal. A component of the pathogenesis is the insulin resistance in connection with proinflammatory cytokines as well as antioxidants. Whereas the basic pathophysiological processes are known, therapies do not always succeed. Furthermore it is unknown to what extent the transition from pregnancy to lactation involves etiologic risk.

**Objective:** The aim of this study was to examine, to what extent the transition of late pregnancy rises the risk from parturition to lactation in Shetland pony mares for hyperlipidemia. In addition to the energy-fat-metabolism parameters in the liver, it was also analyzed whether endotoxins and antioxidants (TEAC) show any harmful changes during this phase that favours increased fat mobilization.

**Methods:** 15 healthy, well-fed Shetland pony mares without foal at foot were clinically examined about four to eight weeks after the successful coverage. The following examinations were made up to 24 hours (h) ante partum (ap), four hours post-partum (pp), 12-16 hours pp and three weeks (wk) pp and blood samples (vena jugularis externa) were taken. The following haematological parameters were determined: triacylglycerol (TG), free fatty acids (FFA), cholesterol,  $\beta$ -hydroxy-butyrate (BHB), glucose, total bilirubin, aspartate amino transferase (ASAT), glutamate dehydrogenase (GLDH),  $\gamma$ -glutamic acid transaminase (GGT), alkaline phosphatase (AP), total protein (TP), albumin, urea, creatinine, creatine kinase (CK), endotoxin and the antioxidant sum parameter TEAC.

**Results:** Pregnancy, foaling and lactation showed a physiologically procession in Shetland pony mares. The blood analysis displayed the main changes in TG and FFA as well as in endotoxins and the CK 24 h ap.

The TG was already increased with  $\bar{x} = 0.18$  mmol/l (0.15-0.38 mmol/l 1st to 3rd quartile) 4-8 weeks (wk) post conceptionem (pc) and increased until 24 h ap  $\bar{x} = 0.27$  mmol/l (0.16–0.44 mmol/l) ( $p \leq 0.05$ ); from 4 h pp to 3 wk pp parameters varied between  $\bar{x} = 0.14$  and  $\bar{x} = 0.19$  mmol/l at the same level. The TG correlated most closely and frequently with cholesterol (0.66), albumin (0.58), creatinine (0.81) and urea (-0.61), which is mainly due to their composition. The TG concentration increases right before foaling and can be explained by the increase in cortisol during parturition.

## Summary

4-8 wk pc and 4 h pp the medians of the FFA concentrations ranged from  $\bar{x} = 128 \mu\text{mol/l}$  (95-197  $\mu\text{mol/l}$ ), decreased 24 h ap to  $\bar{x} = 75 \mu\text{mol/l}$  (64–198  $\mu\text{mol/l}$ ) and levelled out 12-16 h up to 3 wk pp at  $\bar{x} = 80 \mu\text{mol/l}$  (70–100  $\mu\text{mol/l}$ ). The FFA correlations with bilirubin (0.35) and creatinine (0.35) are based on the pathophysiological relationships, without showing etiological references.

The glucose concentrations were invariably physiological. 4 h ( $5.24 \pm 1.39 \text{ mmol/l}$ ) until 12-16 h pp ( $4.92 \pm 1.67 \text{ mmol/l}$ ) the glucose concentrations were at the highest level due to parturition. The linkage of the glucose and the energy metabolism are visualized through reliable correlations to BHB (-0.41) and AP (-0.29). Relations with FFA or endotoxins are statistically not secured.

The CK activities fluctuated during the control period between  $\bar{x} = 330$  until 420 U/l (300-500 U/l); 24 h ap the results were significantly lower at  $\bar{x} = 277 \text{ U/l}$  (197–334 U/l) potentially resulting in the cortisol increase caused by parturition. The foaling leads to a moderate increase in CK activities.

Urea concentrations showed a significant increase 4-8 wk pc with  $\bar{x} = 5.75 \pm 1.01 \text{ mmol/l}$  up to  $\bar{x} = 6.42 \pm 1.10 \text{ mmol/l}$  3 wk pp. The reliable correlations of urea to BHB are likely to rise the concentration when metabolism increases pp.

The bilirubin concentration decreases from 12 to 8  $\mu\text{mol/l}$  during the control process, as well as the AP activities from 780 to 580 U/l and ASAT activities from 395 to approximately 300 U/l. At the beginning of the study the GGT and GLDH activities are low at 17 respectively 6 U/l and significantly rises in the physiological range during the last analysis 3 wk pp by about approximately 50%. An increased stress of the liver cannot be deducted from these parameters.

The endotoxin concentrations are pp at the lowest and at the limit of determination. The significant increase in concentration 24 h ap is evocative on relations with the increased TG and decreased FFA as well as CK due to rising cortisol concentrations before parturition. Reliable correlations exist primarily to TEAC, the antioxidant status, which means that the endotoxins lead to antioxidant consumption.

The concentrations of TP, albumin, creatinine and TEAC remained virtually physiologically constant throughout the study.

**Conclusions:** Healthy, well-fed Shetland pony mares show during pregnancy, foaling and lactation a stable metabolism. On the basis of TG and endotoxins a greater burden is recognizable 24 hours before parturition, which is obviously the result of rising cortisol concentration leading to parturition.

## 8 LITERATURVERZEICHNIS

- Adams AA, Katepalli MP, Kohler K, Reedy SE, Stilz JP, Vick MM, Fitzgerald BP, Lawrence LM, Horohov DW. Effect of body condition, body weight and adiposity on inflammatory cytokine responses in old horses. *Vet Immunol Immunopathol.* 2009;127:286-94.
- Ahlers K. Referenzwerte für Insulin, Insulinwachstumsfaktor-1 und Adrenocorticotropes Hormon der Ponys [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2010.
- Alberghina D, Piccione D, Amorini AM, D'Urso S, Longo S, Picardi M, Tavazzi B, Lazzarino G. Modulation of circulating purines and pyrimidines by physical exercise in the horse. *Eur J Appl Physiol.* 2011;111(3):549-56.
- Allen GK, Campbell-Beggs C, Robinson JA, Johnson PJ, Green EM. Induction of early-phase endotoxin tolerance in horses. *Equine Vet J.* 1996;28:269-74.
- Anderson MG, Certel SJ, Certel K. Function of the *Drosophila* POU domain transcription factor drifter as an upstream regulator of breathless receptor tyrosine kinase expression in developing trachea. *Development England.* 1996;122(12):4169-78.
- Ankringa N, Wynberg ID, Boerma S, Ijzer J. Copper-associated hepatic cirrhosis in a Friesian horse. *Tijdschr Diergeneeskd.* 2012;137(5):310-4.
- Atherton RP, Harold C, McKenzie III, Furr MO. Acute Colitis: Pathophysiology and Noninfectious Causes. *Comp Equine.* 2009;4:366-73.
- Atkin MA, Gaper A, Ullegaddi R, Powers HJ. Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma: response to antioxidants in vitro and to antioxidant supplementation. *Clin Chem.* 2005;51(11):2138-44.
- Bailey SR, Elliott J. Die Bedeutung von Prostanoiden und Stickoxiden bei der endotoxininduzierten verminderten Reaktivität der Blutgefäße beim Pferd. *Equine Vet J.* 1999;31:212-8.
- Bailey SR, Elliott J. The corticosteroid laminitis story: 2. Science of if, when and how. *Equine Vet J.* 2007;39:7-11.
- Bailey SR, Menzies-Gow NJ, Harris PA, Habershon-Butcher JL, Crawford C, Berhane Y, Boston RC, Elliott J. Effect of dietary fructans and dexamethasone administration on the insulin response of ponies predisposed to laminitis. *J Am Vet Med Assoc.* 2007;231:1365-73.
- Bailey SR, Adair HS, Reinemeyer CR, Morgan SJ, Brooks AC, Longhofer SL, Elliott J. Plasma concentrations of endotoxin and platelet activation in the developmental stage of oligofructose-induced laminitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2009;129(3-4):167-73.
- Bakarat SEDM, Ford EJH. Further studies on the diagnostic value of gamma-glutamyltranspeptidase and 5'-nucleotidase in cattle, sheep and horses. *Res Vet Sci Oxford.* 1988;44:354-60.
- Bala M. Einfluss von CORS-26 und Parametern des Lipoproteinmetabolismus auf die Monozytenaktivierung bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ II [Dissertation med.]. Regensburg: Universität Regensburg; 2009.



- Bartmann CP, Baums C, Jobst D, Verspohl J, Amtsberg G, Deegen E. Prophylaxe der Typhlocolitis des Pferdes. Vortragsband bpt-Kongress. 2004.
- Barton MH. Disorders of the liver. In: Reed SM, Bayly WM, Sellon DC (Hrsg.): Equine International Medicine. 2<sup>nd</sup> ed. St. Lauris, Sounders. 2004:951-94.
- Barton MH, LeRoy BE. Serum bile acids concentrations in healthy and clinically ill neonatal foals. J Vet Intern Med. 2007;21(3):508-13.
- Barton MH, Bruce EH, Moore JN, Norton N, Anders B, Morris DD. Zur Wirkung von Tumor Nekrose Faktor-Antikörper bei Pferden während experimentell induzierter Endotoxämie. Am J Vet Res. 1998;59:792-7.
- Bauer M, Brunkhorst F, Welte T, Gerlach H, Reinhart K. Sepsis – Aktuelle Aspekte zu Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie. Anaesthesist. 2006;55:835-45.
- Baums C, Amtsberg G, Bartmann CP, Deegen E. Typhlocolitis beim Pferd. Vet-MedReport. 2002;2:3.
- Behl C, Hartl FU. Molekulare Mechanismen des Alterns. Ernährung. 2007;2:79-85.
- Belknap JK, Giguere S, Pettigrew A, Cochran AM, Van Eps AW. Lamellar pro-inflammatory cytokine expression patterns in laminitis at the developmental stage and at the onset of lameness: innate vs. adaptive immune response. Equine Vet J. 2007;39:42-7.
- Berg EL, McNamara DL, Keisler DH. Endocrine profiles of periparturient mares and their foals. J Anim Sci. 2007;85:1660-8.
- Bickel S, Scheffer T. Multi-View Clustering. Proceedings of the IEEE International Conference on Data Mining. 2004.
- Blanchard TL, Elmore RG, Kinden DA, Berg JN, Mollett TA, Garcia MC. Effect of intrauterine infusion of Escherichia coli endotoxin in postpartum pony mares. Am J Vet Res. 1985;46(10):2157-62.
- Bohar Topolovec M, Krulic P, Prošek M, Jazbec Križman P, Smidovnik A, Nemec Svete A. Endogenous plasma coenzyme Q10 concentration does not correlate with plasma totalantioxidantcapacity level in healthy untrained horses. Res Vet Sci. 2013.
- Breidenbach A. Triglyceridspaltende Plasma- und Gewebslipasen von Pferd und Pony im Hinblick auf das Hyperlipämie-Syndrom [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 1996.
- Brewer B, Koterba AM. Development of a scoring system for the early diagnosis of equine neonatal sepsis. Equine Vet J. 1988;20:18-22.
- Brianceau P, Divers TJ. Acute thrombosis of limb arteries in horses with sepsis: five cases (1988-1998). Equine Vet J. 2001;33:105-9.
- Brigham KL, Meyrick B. Endotoxin and lung injury. Am Rev Respir Dis. 1986;133:913-27.
- Brincker B. Einsatz von L-Glutamin und seine Wirkung auf den antioxidativen Status bei Galopprennpferden [Dissertation med. vet.]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 2004.
- Brinkmann L, Gerken M, Riek A. Effect of long-term restriction on the health status and welfare of a robust horse breed, the Shetland pony (Equus ferus caballus). Res Vet Sci. 2013;94(3):826-31.

- Brock-Utne JG, Gaffin L, Nells MT, Gathiram P. Endotoxemia in exhausted runners after long-distance race. *S Afr Med J*. 1988;73:533-6.
- Brömme HJ, Loertzer H, Akcetin Z. Der postischämische Reperfusionsschaden: Biochemische und methodische Grundlagen. *Urologe A*. 2002;41:159-63.
- Bueno AC, Seahorn TL, Cornick-Seahorn J, Horohov DW, Moore RM. Plasma- und Harn-Stickoxid-Konzentrationen bei Pferden nach gering dosierter Endotoxin-Infusion. *Am J Vet Res*. 1999;60:969-76.
- Buff PR, Morrison CD, Ganjam VK, Keisler DH. Effects of short-term feed deprivation and melatonin implants on circadian patterns of leptin in the horse. *J Anim Sci*. 2005;83:1023-32.
- Burns TA, Watts MR, Weber PS, McCutcheon LJ, Geor RJ, Belknap JK. Laminar inflammatory events in lean and obese ponies subjected to high carbohydrate feeding: Implications for pasture-associated laminitis. *Equine Vet J*. 2014;25.
- Burrows GE. Dose-response of ponies to parenteral *Escherichia coli* endotoxin. *Can J Comp Med*. 1981;45:207-10.
- Caltabillota TJ, Earl LR, Thompson DL jr, Clavier SE, Mitcham PB. Hyperleptinemia in mares and geldings: assessment of insulin sensitivity from glucose responses to insulin injection. *J Anim Sci*. 2010;88(9):2940-9.
- Capen CC. Tumors of the endocrine glands. In: Meuten DJ (Hrsg.): *Tumors in Domestic animals*. 4<sup>rd</sup> Edition, Iowa State Press, Blackwell. 2002:607-96.
- Carter RA. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalized and localized obesity in a cohort of ponies. *Equine vet J*. 2009;41:171-8.
- Chen K, Suh J, Carr AC, Morrow JD, Zeind J, Frei B. Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. *Am J Endocrinol Metab*. 2000;279:1406-12.
- Clark CEF, Fulkerson WJ, Nandra KS, Barchia I, Macmillan KL. The use of indicators to assess the degree of mobilisation of body reserves in dairy cows in early lactation on a pasture-based diet. *Livestock Prod Sci*. 2005;94:199-211.
- Coenen M, Vervuert I. Hepatopathien beim Pferd. In: Aschenbach JR, Gäbel G, Dauschies A (Hrsg.): *LBH: Proceedings 4. Leipziger Tierärztekongress*. 2008;141-3.
- Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*. 2002;420:885-91.
- Cohen ND, Woods AM. Charakteristika und Risikofaktoren hinsichtlich der Mortalität von Pferden mit akuter Diarrhoe: 122 Fälle (1990-1996). *J Am Vet Med Assoc*. 1999;214:382-90.
- Collatos C, Barton MH, Prasse KW, Moore JN. Intravascular and peritoneal coagulation and fibrinolysis in horses with acute gastrointestinal tract diseases. *J Am Vet Med Assoc*. 1995;206:679-985.
- Cross AS, Opal SM. Endotoxin's role in gram- negative bacterial infection. *Current Opinion Infect Dis*. 1995;8:156-63.
- Cudmore LA, Muurlink T, Whittem T, Bailey SR. effects of oral clenbuterol on the clinical and inflammatory response to endotoxaemia in the horse. *Res Vet Sci*. 2013;94(3).

- Dalferth PF. Oxidativ modifiziertes LDL: Untersuchungen zu seiner Bildung und seinen zellulären Effekten [Dissertation rer. nat.]. Tübingen: Eberhard-Karls-Universität Tübingen; 2000.
- Davis JL, Blikslager AT, Catto K, Jones SL. A retrospective analysis of hepatic injury in horses with proximal enteritis (1984-2002). *J Vet Intern Med.* 2003;17(6):896-901.
- De Moffarts B, Kirschvink N, Art T, Pincemail J, Lekeux P. Effect of oral antioxidant supplementation on blood antioxidant status in trained thoroughbred horses *Vet J.* 2005;169:65-74.
- Deaton CM, Marlin DJ, Smith NC, Roberts CA, Harris PA, Schroter RC. Antioxidant and inflammatory response of healthy horses affected by recurrent airway obstruction to inhaled ozone. *Equine Vet J.* 2005;37(3):243-9.
- Deichsel K, Aurich J, Parvizi N, Bruckmaier RM, Aurich C. LH and IGF-1 release during oestrus and early luteal phase in lactating and non-lactating horse mares. *Animal Reprod Sci.* 2006;91:97–106.
- Dinges G. Untersuchungen zum antioxidativen Status bei verschiedenen Formen der Dislocatio abomasi des Rindes im Blut der Vena jugularis und der Vena epigastrica [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2004.
- Dinkel R. In-vivo Metabolismus der VLDL-Apolipoproteine ApoB, ApoCIII und ApoE. [Dissertation med.]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 2002.
- Doherty TJ, Andrews FM, Abraha TW, Osborne D, Frazier DL. Metoclopramid wirkt einer Endotoxinbedingten Verzögerung der Magenpassage von Acetaminophen beim Pferd entgegen. *Can J Vet Res.* 1999;63:37-40.
- Doreau M, Boulot S, Barlet JP, Patureau-Mirand P. Yield and composition of milk from lactating mares: effect of lactation stage and individual differences. *J Dairy Res.* 1990;57:449-54.
- Doreau M, Boulot S, Chilliard Y. Yield and composition of milk from lactating mares: effect of body condition at foaling. *J Dairy Res.* 1993;60(4):457-66.
- Dübeler I. Antioxidativer Status in Euterlymphe und Blut bei gesunden und kranken Kühen [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2006.
- Dufner J, Jensen U, Schumacher E. Statistik mit SAS. 3. Auflage, Vieweg und Teubner Verlag Stuttgart. 2004.
- Dühlmeier R. Untersuchungen zur enteroinsularen Achse bei Equiden. Adaption eines heterologen Radioimmunoassays zur Bestimmung der equinen Plasmakonzentrationen des Glucose-abhängigen Insulintropen Polypeptids (GIP) [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 1998.
- Dühlmeier R, Hacker A, Widdel-Bigdely A, von Engelhardt W, Sallmann HP. Insulin stimulates GLUT4 translocation in the semitendinosus muscle of Shetland ponies. *Vet J.* 2010;184:176-81.
- Dunkel B, McKenzie HC 3rd. Severe hypertriglyceridaemia in clinically ill horses: diagnosis, treatment and outcome. *Equine Vet J.* 2003;35(6):590-5.
- Dunkel B, Rickards KJ, Page CP, Cunningham FM. Platelet activation in ponies with airway inflammation. *Equine Vet J.* 2007;39:557-61.

- Dunkel B, Wilford SA, Parkinson NJ, Ward C, Smith P, Grahame L, Brazil T, Schott HC. Severe hypertriglyceridaemia in horses and ponies with endocrine disorders. *Equine Vet J.* 2014;46:118-22.
- Dunkle NJ, Bottoms GD, Fessler JF, Knox K, Roesel OF. Effects of flunixin meglumine on blood pressure and fluid compartment volume changes in ponies given endotoxin. *Am J Vet Res.* 1985;46:1540-4.
- Durham AE. Clinical application of parenteral nutrition in the treatment of five ponies and one donkey with hyperlipaemia. *Vet Rec.* 2006;158(5):159-64.
- Durham AE, Smith KC, Newton JR. An evaluation of diagnostic data in comparison to the results of liver biopsies in mature horses. *Equine Vet J.* 2003;35(6):554-9.
- Durham AE, Rendle DI, Newton JE. The effect of metformin on measurements of insulin sensitivity and beta cell response in 18 horses and ponies with insulin resistance. *Equine Vet J.* 2008;40:493-500.
- Dybdal NO. Pituitary pars intermedia dysfunction (Equine Cushing's-like disease). In: Johnson R (Hrsg.): *Current therapy in Equine medicine.* 4rd Edition Saunders WB, Philadelphia; 1997:499-501.
- El-Ashker MR. Acute kidney injury mediated by oxidative stress in Egyptian horses with exertional rhabdomyolysis. *Vet Res Commun.* 2011;35(5):311-20.
- El-Deeb WM, El-Bahr SM. Investigation of selected biochemical indicators of Equine Rhabdomyolysis in Arabian Horses: pro-inflammatory cytokines and oxidative stress markers. *Vet Res Commun.* 2010;34:677-89.
- Elmahdi BEM. *Comparative Aspects of Glucose Metabolism in Camels, Sheep, Horses and Ponies* [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 1998.
- Espelage W. *Renale Clearanceuntersuchungen beim Pferd* [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 1995.
- Ewert KM, Fessler JF, Templeton CB, Bottoms GD, Latshaw HS, Johnson MA. Endotoxin-induced hematologic and blood chemical changes in ponies: effects of flunixin meglumine, dexamethasone, and prednisolone. *Am J Vet Res.* 1985;46:24-30.
- Fagliari JJ, McClenahan D, Evanson OA, Weiss DJ. Veränderungen der Plasmaproteinkonzentration bei Ponys mit experimentell hervorgerufener alimentärer Rehe. *Am J Vet Res.* 1998;59:1234-7.
- Farney JK, Laman K, Mamedova J, Coetzee F, Butch K, Kanich, Sordillo LM, Stoakes SK, Minton JE, Hollis LC, Bradford BJ. Anti-inflammatory salicylate treatment alters the metabolic adaptations to lactation in dairy cattle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2013;305(2):110-7.
- Feghali CA, Wright TM. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Bioscience* 1997;2:12-6.
- Feyerabend A. *Behandlung von bakteriellen Atemwegsinfektionen des Kalbes mit Florfenicol und dem nichtsteroidalen Antiphlogistikum Flunixin-Meglumin in Beziehung zu bakteriologischen und immunologischen Parametern* [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 1999.
- Filipović N, Stojević Z, Prvanović N, Tucek Z. The influence of late pregnancy and lactation on bone metabolism in mares. *Res Vet Sci.* 2010a;88(3):405-10.

- Filipović N, Stojić Z, Prvanović N. Serum fructosamine concentrations in relation to metabolic changes during late pregnancy and early lactation in mares. *Berl Munch Tierarztl Wschr.* 2010b;123(3-4):169-73.
- Finno CJ, Valberg SJ, Wünschmann A, Murphy MJ. Seasonal pasture myopathy in horses in the midwestern United States: 14 cases (1998-2005). *J Am Vet Med Assoc.* 2006;229(7):1134-41.
- Finshman AM, Valberg SJ. Factors affecting clinical assessment of insulin sensitivity in horse. *Equine Vet J.* 2007;39(6):567-75.
- Fischer B, Navarrete-Santos A. Glukose, Glukosetransporter und Insulin. *Reproduktionsmed.* 2003;19:195-201.
- Fitzgerald BP, McManus CJ. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. *Biol Reprod.* 2000;63:335-40.
- Flocke A. Peripartaler Stoffwechsel mit Lipoproteinstatus bei ein- und zwillingssträchtigen Merino- und Schwarzköpfigen Fleischschafen. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2012.
- Flohé L. Selen im Peroxidstoffwechsel. *Medizinische Klinik* 92 (Suppl III). 1997;5-7.
- Fowden AL, Forhead AJ, Ousey JC. The endocrinology of equine parturition. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2008;116(7):393-403.
- Frank J, Füll B, Schütt C. Endotoxin induzierte Alterationen der Immunantwort. 3. Endotoxintagung Institut für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig. Leipziger Universitätsverlag: „Endotoxine, Bedeutung für Tiere und Menschen“. 2002.
- Frank N. Equine metabolic syndrome. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2011;27:73-92.
- Frank N, Sojka JE, Latour MA. Effects of hypothyroidism and withholding of feed on plasma lipid concentrations, concentration and composition of very-low-density lipoprotein, and plasma lipase activity in horses. *Am J Vet Res.* 2003;64(7):823-8.
- Frank N, Tadros EM. Insulin dysregulation. *Equine Vet J.* 2014;46(1):103-12.
- Freismuth A. Eine placebokontrollierte Doppelblindstudie zur Wirkung von Vitamin E und Selen auf die Muskulatur von Sportpferden [Dissertation med. vet.]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 2004.
- Freudenberg MA. Degradation von Endotoxinen in vivo. In: Endotoxinassoziierte infektiöse und nichtinfektiöse Erkrankungen bei Tieren. ATF-Tagung, Leipzig 6.+7. Dez., ISBN 3-00-002283-X. 1997;45.
- Freudenberg MA, Bog-Hansen TC, Back U, Galanos C. Interactions of lipopolysaccharides with plasma high-density lipoprotein in rats. *Infect Immun.* 1980;28:373-80.
- Fritsche D. Endotoxinpromovierte bakterielle Translokationen und Besiedlung von Uterus und Euter beim Hochleistungsstute im peripartalen Zeitraum [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 1998.
- Fritsche D, Füll M, Jäkel L, Krüger M. Der Einfluss freier Endotoxine auf den Intermediärstoffwechsel des Hochleistungsstutes im peripartalen Zeitraum. *Tierarztl Prax.* 2000;28:264-70.

- Fürll M, Fiedler M. Einfluss unterschiedlicher Fütterung und Haltung auf Stoffwechselfparameter bei Shetlandponys. PHK. 1992;8:133-6.
- Fürll M, Schäfer M. Lipolyse und Hyperbilirubinämie- ein Beitrag zur Pathogenese des Ikterus. Mh Vet Med. 1992a;47:181-6.
- Fürll M, Schäfer M. Vorkommen und Verlauf der Hyperlipidämie bei Ponys. Proc. 12. Arbeitstagung der Fachgruppe Pferdekrankheiten. Wiesbaden. 1992b;239-254.
- Fürll M, Schäfer M, Huskamp B, Deegen D. Vorkommen und Verlauf der Hyperlipidämie bei Ponys. Proc. 12. Arbeitstagung der Fachgruppe Pferdekrankheiten, Wiesbaden. 1992a:239-54.
- Fürll M, Deckert W, Schäfer M, Wehlitz A. Lipolyse und Ketogenese bei Milchkühen - Beobachtungen im Laktationsverlauf. Mh Vet Med. 1992b;47:119-24.
- Fürll M, Kirbach H, Knobloch B. Glukokortikosteroideinfluss auf die fastenstimulierte Lipolyse und die Leberfunktion bei Kühen. Tierarztl Prax. 1993;9:373-416.
- Fürll M, Kastner A, Fritsche D, Kleiser L, Jäkel L, Richter V. Fettstoffwechsel-Endotoxin-Interaktionen bei Kühen und deren möglichen pathogenetischen Ursachen für die Entstehung der Dislocatio abomasi. In: Fürll M (Hrsg). Stoffwechselbelastung, -diagnostik und -stabilisierung beim Rind. Leipziger Samstagsakademie Apr 25; Leipzig: Med. Tierklinik der Universität Leipzig. 1998:105-16.
- Fürll M, Dabbagh MM, Hoops M, Jäkel L, Kirbach H, Kleiser L, Müller D, Röcher R, Schäfer M, Stenschke E, Uhlig A, Wilken H. Ketose bei Kühen. Großtierpraxis. 2001;2:28-39.
- Galle M. Einfluss einer perioperativen Omega-3-Fettsäure Infusion auf die hämodynamische Funktion bei kardiochirurgischen Bypasspatienten [Dissertation med.]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 2009.
- Gardner RB, Nydam DV, Mohammed HO, Ducharme NG, Divers TJ. Serum gamma glutamyl transferase activity in horses with right or left dorsal displacements of the large colon. J Vet Intern Med. 2005;19(5):761-4.
- Gayle JM, Cohen ND, Chaffin MK. Überlebenskriterien für neugeborene Fohlen mit Septikämie: 65 Fälle (1988-1995). J Vet Intern Med. 1998;12:140-6.
- Geelen SNJ, Lemmens AG, Terpstra AHM, Wensing TH, Beynen AC. High density lipoprotein cholesteryl ester metabolism in the pony, an animal species without plasma cholesteryl ester transfer protein activity: transfer of high density lipoprotein cholesteryl esters to lower density lipoproteins and the effect of the amount of fat in the diet. Comp Biochem Physiol Part B: Biochem Molecul Biol. 2001;130:145-54.
- Geerdes-Fenge HF, Lode H, Ziegler D, Hund M, Wagner F, Fangmann W, Loehr A. Erregerspektrum der Sepsis. Chemotherapie J. 1994;3:131-43.
- Gentry LR, Thompson DL jr, Gentry GT jr, Davis KA, Godke RA, Cartmill JA. The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. J Anim Sci. 2002;80:2695-703.
- Geor RJ. Pasture-associated laminitis. Vet Clin North Am Equine Pract. 2009;25(1):39-50.

- George LA, Staniar WB, Cubitt TA, Treiber KH, Harris PA, Geor RJ. Evaluation of the effects of pregnancy on insulin sensitivity, insulin secretion and glucose dynamics in Thoroughbred mares. *Am J Vet Res.* 2011;72(5):666-74.
- Gerber V, Straub B. Therapie der Typhlocolitis des adulten Pferdes. *Prakt Tierarzt.* 2006;87:120-4.
- Gerber V, Swinburne JE, Blott SC, Nussbaumer P, Ramseyer A, Klukowska-Rötzler J, Dolf G, Marti E, Burger D, Leeb T. Genetik der rezidivierenden Atemwegsobstruktion (RAO). *Dtsch Tierarztl Wschr.* 2008;115:271-5.
- Gibbs PG, Potter GD, Blake RW, McMullan WC. Milk production of quarter horse mares during 150 days of lactation. *J Anim Sci.* 1982;54:496-9.
- Gieseler T. Alters- und rasseabhängige Referenzbereiche für hämatologische und klinisch-chemische Parameter beim Pferd. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2012.
- Goerres A, Fürll M. Endotoxine (ET) und ET-Effektoren (ALA-AK, APP) bei häufigen Rinderkrankheiten. In: Fürll M. (Hrsg.): Stoffwechselstörungen bei Wiederkäuern: Erkennen – Behandeln - Vorbeugen. Med. Tierklinik Leipzig. 2002:137-44.
- Goldstein BJ, Mahadev K, Wu X. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature.* 2006;440:944–8.
- Gondolatsch CA. Stellenwert der Leber-Milz-Szintigraphie mit 99mTechnetium-Zinnkolloid bei der Methotrexat-Therapie dermatologischer Erkrankungen [Dissertation med.]. Bonn: Rheinische Friedrich-Wilhelm-Universität Bonn; 2006.
- Gossiau A, Rensing L. Oxidative stress, age-dependent [correction of agerelated] cell damage and antioxidative mechanisms. *Z Gerontol Geriatr.* 2002;35:139-50.
- Grabner A. Leberdiagnostik beim Pferd. *Tierarztl Praxis.* 1990;18(1):41-5.
- Grabner A, Dietz O. Krankheiten der Leber. In: Dietz O, Huskamp B (Hrsg.): Handbuch Pferdepraxis. 3. Auflage, Enke Verlag Stuttgart. 2005:527-37.
- Grace PA. Ischaemia–reperfusion injury. *Br J Surg.* 1994;81:637-47.
- Grallert H, Leopoldseder S, Schütt M, Kurze P, Buchberger B. Eine neuartige und tierschonende Methode zur Endotoxin-Bestimmung. *BIOspektrum.* 2011;17(7):788-90.
- Gramzow S. Effekte von Antioxidantien bei landwirtschaftlichen Nutztieren. *Lohmann Information.* 2001;3:23-8.
- Grimminger F, Mayer K, Seeger W. Gibt es eine gesicherte Immuntherapie bei der Sepsis? *Internist.* 1997;38:541-52.
- Gronwall R, Engelking LR, Noonan N. Direct measurement of biliary bilirubin excretion in ponies during fasting. *Am J Vet Res.* 1980;41(1):125-6.
- Grosche A. Kolik bei Pferden – Retrospektive Studie aus dem Patientengut der Medizinischen Tierklinik Leipzig 1994–1998 [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2000.
- Grunwald D. Marginale Linolsäureversorgung und Parameter des Lipidstoffwechsels in Plasma und Organen beim adulten Pony [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 1991.

- Gruys E, Toussaint MJM, Niewold TA, Koopmans SJ. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci.* 2005;11:1045-56.
- Gück T. Einfluss hoher Vitamin-A-Supplemente auf den Vitamin-A- und E-Haushalt beim Shetlandpony [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 1998.
- Gündüz MC1, Kaşıkci G, Ekiz B. Follicular and steroid hormone changes in Arabian mares in the postpartum period. *Anim Reprod Sci.* 2008;109(1-4):200-5.
- Guo XR. Condition of the serum antioxidation in normal pregnant women. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 1993;28:527-9.
- Hacker A. Insulinabhängiger Glucosetransport in den Skelettmuskel von Ponys und Schweinen [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 2004.
- Hacklechner B. Referenzbereiche in der Labordiagnostik beim Pferd (Natrium, Kalium, anorganisches Phosphat, Chlorid, Creatinin und Harnstoff) [Dissertation med. vet.]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 1993.
- Hagen J, Fürll M. Antioxidativer Stoffwechsel im Serum und in der Euterlymphe von an Mastitis erkrankten Kühen im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren. *Wien Tierarztl Monatsschr.* 2010;97, 270-8.
- Haggett EF, Magdesian KG, Kass PH. Clinical implications of high liver enzyme activities in hospitalized neonatal foals. *J Am Vet Med Assoc.* 2011;239(5):661-7.
- Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Ann Rev Nutr.* 1996;16:33-50.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys.* 1990;280:1-8.
- Hammond RA, Hannon R, Frean SP, Armstrong SJ, Flower RJ, Bryant CE. Induktion von Nitritoxysynthase und Cyclooxygenase-2 in alveolären Makrophagen des Pferdes durch Endotoxin. *Am J Vet Res.* 1999;60:426-31.
- Handler J, Aurich JE. Physiologie des Sexualzyklus der Stute. In: Aurich C (Hrsg.): Reproduktionsmedizin beim Pferd. Parey Verlag Stuttgart. 2. Auflage; 2009:15-29.
- Hardardottir I, Grünfeld C, Feingold KR. Effects of endotoxin and cytokines on lipid metabolism. *Lipidology.* 1994;5:207-15.
- Harvey JW, Pate MG, Kivipelto J, Asquith RL. Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. *Vet Clin Pathol.* 2005;34(3):248-54.
- Hawkins M, Tonelli J, Kishore P, Stein D, Ragucci E, Gitig A, Reddy K. Contribution of Elevated Free Fatty Acid Levels to the Lack of Glucose Effectiveness in Type 2 Diabetes. *Diabetes.* 2003;52: 2748-58.
- Heidler B, Parvizi N, Sauerwein H, Bruckmaier RM, Heintges U, Aurich JE, Aurich C. Effects of lactation on metabolic and reproductive hormones in Lipizzaner mares. *Domestic Animal Endocrinology.* 2003;25:47-59.



- Heidler B, Aurich JE, Pohl W, Aurich C. Body weight of mares and foals, estrous cycles and plasma glucose concentration in lactating and non-lactating Lipizzaner mares. *Theriogenology*. 2004;61(5):883-93.
- Heinrichs M, Baumgärtner W, Capen CC. Immunocytochemical Demonstration of pro-opiomelanocortin-derived peptides in pituitary adenomas of the Pars intermedia in horses. *Vet Pathol*. 1990;27:419-25.
- Hermanns AM. Evaluierung der Rassevielfalt bei vom Aussterben bedrohten Nutz- und Haustierrassen in Zoos, Tierparks und anderen öffentlich zugänglichen Tierhaltungen [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 2007.
- Higgins JK, Puschner B, Kass PH, Posterla N. Assessment of vitamin E concentrations in serum and cerebrospinal fluid of horses following oral administration of vitamin E. *Am J Vet Res*. 2008;69:785-90.
- Hintz HF. Nutrition and equine performance. *J Nutr*. 1994;124(12):2723-9.
- Hock A. Klinische Evaluierung des Analysesystems ABBOTT VISION für die Tierarten Hund, Katze und Pferd anhand ausgewählter blutchemischer Parameter [Dissertation med. vet.]. Gießen: Justus-Liebig-Universität Gießen; 2003.
- Hoffmann C, Ellenberger C, Mattos RC, Aupperle H, Dhein S, Stief B, Schoon HA. The equine endometrosis: new insights into the pathogenesis. *Anim Sci Reprod*. 2009;111:261-78.
- Holdstock NB, Allen VL, Fowden AL. Pancreatic endocrine function in newborn pony foals after induced or spontaneous delivery at term. *Equine Vet J*. 2014;46:118-22.
- Hospes R, Bleul U. The Effect of Extended Preoperative Fasting in Mares Undergoing Surgery of the Perineal Region. *J Equine Vet Sci*. 2007;27:542-5.
- Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Redox paradox: Insulin action is facilitated by insulin-stimulated reactive oxygen species with multiple potential signaling targets. *Diabetes*. 2005;54:311–21.
- Huff NK, Thompson DL jr, Mitcham PB, Storer WA. Hyperleptinemia in horses: responses to administration of a small dose of lipopolysaccharide endotoxin in mares and geldings. *J Anim Sci*. 2010;88(3):926-36.
- Hughes KJ, Hodgson DR, Dart AJ. Hyperlipaemia in a 7-week-old miniature pony foal. *Aust Vet J*. 2002;80(6):350-1.
- Hurley JC. Endotoxaemia: Methods of detection and clinical correlates. *Clin Mikrobiol Rev*. 1995;8:268-92.
- Jackson PGG. Geburtshilfe in der Tiermedizin. Verlag Urban & Fischer München. 1. Auflage 2007:263-5.
- Jeffcott LB, Field JR. Epidemiological aspects of hyperlipaemia in ponies in south eastern Australia. *Aust Vet J*. 1985;62:140-1.
- Jobst D. Verbreitung von *Clostridium difficile* in einer Pferdeklinik unter Berücksichtigung des Vorkommens von *Clostridium difficile* und *Clostridium perfringens* im Kot von Pferden mit Koliksymptomatik und Typhlocolitis. [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 2001.
- Jolkmann W. Blut. In: Schmidt RF, Lang F, Thews G (Hrsg.): Physiologie des Menschen. Springer Verlag Berlin Heidelberg. 29. Auflage; 2005:521-3.

- Kalck KA, Frank N, Elliott SB, Boston RC. Auswirkungen per Nasenschlundsonde applizierter niedrig-dosierter Oligofruktose auf die Auslösung von Hufrehe und damit einhergehende Veränderungen der Glukose- und Insulinwerte bei Pferden. *Am J Vet Res.* 2009;70:624-63.
- Karikoski NP, Horn I, McGowan TW, McGowan CM. The prevalence of endocrinopathic laminitis among horses presented for laminitis at a first-opinion/referral equine hospital. *Domest Anim Endocrinol.* 2011;41:111-7.
- Kaske M, Elmahdi BEM, Engelhardt W, Sallmann HP. Insulin responsiveness of sheep, ponies, miniature pigs and camels: results of hyperinsulinemic clamps using porcine insulin. *J Comp Physiol B.* 2001;171:549-56.
- Kastner A. Untersuchungen zum Fettstoffwechsel und Endotoxin-Metabolismus bei Milchkühen vor dem Auftreten der Dislocatio abomasi [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2002.
- Kędzierski W1, Kusy R, Kowalik S. Plasma leptin level in hyperlipidemic mares and their newborn foals. *Reprod Domest Anim.* 2011;46(2):275-80.
- Kelleher ME, Brosnan RJ, Kass PH, le Jeune SS. Use of physiologic and arterial blood gas variables to predict short-term survival in horses with large colon volvulus. *Vet Surg.* 2013;42(1):107-13.
- Kerr MG. *Veterinary laboratory medicine: clinical biochemistry and haematology.* Blackwell Scientific Publications, Oxford. 2001.
- Kienzle E, Fritz J. Fütterungsbedingte Rehe – Rezidivprophylaxe beim übergewichtigen Pferd. *Tierarztl Praxis Großtiere.* 2013;41(4):257-64.
- Kienzle E, Schramme SC. Body condition scoring and prediction of body weight in adult warm blooded horses. *PHK.* 2004;20:517-24.
- Kirschvink N, De Moffarts B, Lekeux P. The oxidant/ antioxidant equilibrium in horses. *Vet J.* 2008;177:178-191.
- Kleczowski M, Klucinski W, Sikora J, Zdanowicz M, Dzikan P. Role of the antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle nonenzymatic mechanisms (Part 2). *Pol J Vet Sci.* 2003;6:301-8.
- Klotz DK. Der Vergleich transkutaner und laparoskopischer Ultraschalluntersuchungen an den Nieren des Pferdes [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2004.
- Koolman J, Röhm KH. *Taschenatlas der Biochemie. Lipid-Stoffwechsel.* Thieme Verlag, 3. Auflage. 2003:312-4.
- Körner I. Einfluss von Antioxidantien auf die Rekonvaleszenz, den antioxidativen Status und die Labmagenentleerung bei Kühen mit rechtsseitiger Labmagenverlagerung [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2007.
- Krause JB, McKenzie HC III. Parenteral nutrition in foals: a retrospective study of 45 cases (2000-2004). *Equine Vet J.* 2007;39:74-8.
- Kroner K. Blut- und Speichelparameter beim Kaltblutpferd in Ruhe und bei Zugarbeit [Dissertation med. vet.]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 2006.

- Kronfeld DS, Sklan D, Donoughe S. Vitamin A relative dose response test to assess retinol status in neonates. Proc of the VI. Conf of Vet Perinatology. 1990;2:63.
- Kronfeld DS, Treiber KH, Hess TM, Splan RK, Byrd BM, Staniar WB, White NW. Metabolic Syndrome in Healthy Ponies Facilitates Nutritional Countermeasures against Pasture Laminitis 1–3. J Nutr. 2006;136(7):2090-3.
- Kroschinsky F, Schäkel U, Ehninger G. Leucocytosis. Etiology and diagnostic approach. Internist. 2007;48:1239-54.
- Krüger M, Röpke M. Bakterielle Endotoxine – Ursachen für Erkrankungen bei Tieren. In: Fürll M (Hrsg.): Stoffwechselbelastungen, -diagnostik, -stabilisierung beim Rind. Proc. Leipziger Samstagsakademie Bakterielle Endotoxine - Ursachen für Erkrankungen bei Tieren. ISBN 3-00-002818-8. 1998:81-6.
- Krüger M, Schrödl W, Seidler T, Fritsche D, Feyerabend A, Lindner A. Die Bedeutung bakterieller Endotoxine für die Gesundheit von Tieren und Menschen. 3. Endotoxintagung Institut für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig. Leipziger Universitätsverlag: „Endotoxine, Bedeutung für Tiere und Menschen“. 2002.
- Krzanowski WJ. Principles of Multivariate Analysis. A User's Perspective. New York, Oxford University Press. 2000.
- Kyaw WO. Freies Hämoglobin im Plasma von Pferden [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2008.
- Kyaw WO, Uhlig A, Köller G, Sack U, Schusser GF. Freies Hämoglobin und Tumor-Nekrose-Faktor-alpha im Blut von Pferden mit Kolik oder akuter Kolitis. Berl Munch Tierarztl Wschr. 2008;121(11-12):440-5.
- Laboklin. Laboklin aktuell. Klinisch-chemische Parameter beim Pferd. Bad Kissingen. 2005;10:1-4.
- Lammer M, Walther S, Venner M. Rhodococcus equi-Pneumonie bei Fohlen. PHK. 2008;24:549-53.
- Lee DH, Ha MH, Kim JH, Christiani DC, Gross MD, Steffes M. Gammaglutamyltransferase and Diabetes-a 4 year follow-up study. Diabetologia. 2003;46(3):359-64.
- Li G, Lee P, Mori N, Yamamoto I, Arai T. Long term intensive exercise training leads to a higher plasma malate/dehydrogenase (M/L) ratio and increases level of lipid mobilization in horses. Vet Res Commun. 2012;36(2):149-55.
- Liese AM, Siddiqi MQ, Siegel JH, Denny T, Spolarics Z. Augmented TNF- $\alpha$  and IL-10 production by primed human monocytes following interaction with oxidatively modified autologous erythrocytes. J Leukoc Biol. 2001;70:289-96.
- Liochev SI, Fridovich I. Copper, zinc superoxide dismutase as a univalent NO(-) oxidoreductase and as a Dichlorofluorescein peroxidase. J Biol Chem. 2001;276: 35253-7.
- Locher L, Sattler T, Wittek T. Relevance, measurement and assessment of the antioxidative status in farm animals. Berl Munch Tierarztl Wschr. 2011;124(9-10):419-31.
- Löfstedt J. White muscle disease of foals. Vet Clin North Am Equine Pract. 1997;13:169-85.

- Lykkesfeldt J, Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet Journal*. 2007;173:502-11.
- Maas J, Parish SM, Hodgson DR, Valberg SJ. Nutritional myodegeneration. In: Smith BP (Hrsg.) *Large animal internal medicine*. Mosby Verlag. 3. Auflage; 2002:1279-82.
- Macciò A, Madeddu C, Massa D, Mudu MC, Lusso MR, Gramignano G. Hemoglobin levels correlate with interleukin-6 levels in patients with advanced untreated epithelial ovarian cancer: role of inflammation in cancer-related anemia. *Blood Am Soc Hem*. 2005;106(1):362-7.
- Mariella J, Pirrone A, Gentilini F, Castagnetti C. Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. *Theriogenology*. 2014;81(4):526-34.
- Marlin DJ, Fenn K, Smith N, Deaton CD, Roberts CA, Harris PA, Dunster C, Kelly FJ. Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise. *J Nutr*. 2002;132(6):1622-7.
- Marrs J, Klein J, Milne EM, John HA. Liver and biliary system pathology in equine dysautonomia (grass sickness). *J Vet Med Clin Physiol Pathol Med*. 2001;48(4):243-55.
- Matyjaszek A, Morton A, Freeman D, Grosche A, Polyak M, Kuck H. Wirkung von Flunixin Meglumin auf die Heilung ischämischer Kolonschleimhaut beim Pferd. *J Vet Res*. 2009;70:236-46.
- Maxwell SRJ. Prospects for the use of antioxidant therapies. Department of medicine, Queen Elisabeth Hospital, Birmingham, England, Review Article. 1995;49(3).
- McCann JS, Meacham TN, Fontenot JP. Energy utilization and blood traits of ponies fed fat-supplemented diets. *J Anim Sci*. 1987;65:1019-26.
- McConnico RS. Duodenitis – Proximal Jejunitis (Anterior Enteritis, Proximal Enteritis). In: Reed SM, Bayly WM, Sellon DC (Hrsg.) *Equine Internal Medicine: Disorders of the gastrointestinal system*. 2<sup>nd</sup> ed. Saunders Philadelphia. 2003:873-6.
- McGorum BC, Mayhew IG, Amory H, Deprez P, Gillies L, Green K, Mair TS, Nollet H, Wijnberg ID, Hahn CN. Horses on pasture may be affected by equine motor neuron disease. *Equine Vet J*. 2006;38:47-51.
- McKenzie HC 3rd. Equine hyperlipidemias. *Vet Clin North Equine Pract*. 2011;27(1):59-72.
- Metcalf LV, Mehr SJ, Duggan V, Katz LM. A retrospective study of horses investigated for weight lost despite a good appetite (2002-2011). *Equine Vet J*. 2013;45(3):340-5.
- Meyer H, Coenen M. *Pferdefütterung*. 4. Auflage Parey Verlag Berlin. 2002:120-210.
- Milinovich GJ, Burrell BC, Pollitt CC, Klieve AV, Blackall LL, Ouwerkerk D, Woodland E, Trott DJ. Microbial ecology of the equine hindgut during oligofructose-induced laminitis. *ISME J*. 2008;2(11):1089-100.
- Miller JK, Brzenzinska-Slebodzinska E, Madsen FC. Oxidative stress, antioxidants and animal function. *J Dairy Sci*. 1993;76:2812-23.
- Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*. 1996;384:240-2.
- Mills PC, Auer DE, Kramer H, Barry D, Nq JC. Effects of inflammation-associated acute-phase response on hepatic and renal indices in the horse. *Aust Vet J*. 1998;76(3):187-94.

- Mogg TD, Palmer JE. Hyperlipidemia, hyperlipemia, and hepatic lipidosis in American miniature horses: 23 cases (1990-1994). *J Am Vet Med Assoc.* 1995;207:604-7.
- Moore RM. Clinical relevance of intestinal reperfusion injury in horses. *J Am Vet Med Assoc.* 1997;211:1362-6.
- Moore JN, Norton N, Barton MH, Hurley DJ, Reber AJ, Donovan DC, Vandenplas ML, Parker TS, Levine DM. Rapid infusion of a phospholipid emulsion attenuates the effects of endotoxaemia in horses. *Equine Vet J.* 2007;39:243-8.
- Morris DD. Endotoxemia in horses. A review of cellular and humoral mediators involved in its pathogenesis. *J Vet Intern Med.* 1991;5:167-81.
- Müller D, Steinert H, Pagel P. Oxidativer Stress durch freie Radikale – Antioxidantien als Schutzfaktoren. *Labor Dr. Gärtner, LaboReport.* 2001;24:1-6.
- Müller-Peddinghaus R. Pathophysiologie und Pharmakologie reaktiver Sauerstoffspezies bei der Entzündung. *Arzneim Forsch.* 1987;37:589-600.
- Munoz A, Riber C, Santisteban R, Lucas RG, Castejon FM. Effect of training duration and exercise on blood- borne substrates, plasma lactate and enzyme concentrations in andalusian, anglo-arabian and arabian breeds. *Equine Vet J Suppl.* 2002;34:245-51.
- Nagel C, Erber R, Bergmaier C, Wulf M, Aurich J, Möstl E, Aurich C. Cortisol and progesterin release, heart rate and heart rate variability in the pregnant and postpartum mare, fetus and newborn foal. *Theriogenology.* 2012;78(4):759-67.
- Nappert G, Johnson PJ. Säure-Basen Status bei Kolikern. *Prakt Tierarzt.* 2002;83:448.
- Naylor JM. Hyperlipaemia and hyperlipidemia in horses, ponies and donkeys. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 1982a;4:321-6.
- Naylor JM. Treatment and diagnosis of hyperlipaemia and hyperlipidaemia. *Proc Am Assoc Eq Pract.* 1982b;27:323-9.
- Naylor JM, Kronfeld DS, Johnson K. Fasting hyperbilirubinaemia and the relationship of free fatty acids and triglycerides in the horse. *Proc Soc Exper Biol Med, New York.* 1980a;165:86-90.
- Naylor JM, Kronfeld DS, Acland H. Hyperlipaemia in horses: Effects of undernutrition and disease. *Am J Vet Res.* 1980b;41:899-905.
- Neubert D. Labordiagnostik beim Rehepferd. *Prakt Tierarzt.* 2006;87:456-63.
- Neuder LE, Keener JM, Eckert RE, Trujillo JC, Jones SL. Role of p38 MAPK in LPS induced pro-inflammatory cytokine and chemokine gene expression in equine leukocytes. *Vet Immunol Immunopathol.* 2009;129(3-4):192-9.
- Niedermaier G, Janik D, Gehlen H. Cholelithiasis (Gallensteinleiden) als Ursache für eine Leberzirrhose mit hepatoenzepalem Syndrom bei einer 10-jährigen Warmblutstute. *PHK.* 2009;25:568-75.
- Northoff H, Flegel WA, Yurtas R, Weinstock C. The role of lipoproteins in the inactivation of endotoxin by serum. *Infusionstherapie.* 1992;19:202-3.

- Ober B. Enzymuntersuchungen bei Trabrennpferden mit Verdacht auf latente Equine Rhabdomyolyse (Tying up) [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 2000.
- Oftedal OT, Hintz HF, Schryver HF. Lactation in the horse: milk composition and intake by foals. *J Nutr.* 1983;113:2096-106.
- Ohlenschläger G. Was sind freie Radikale? *GIT-Labormedizin.* 1995;18:337-49.
- Oikawa S, McGuirk S, Nishibe K, Higuchi T, Kurosawa T, Watanuki M, Satoh H. Changes of blood biochemical values in ponies recovering from hyperlipemia in Japan. *J Vet Med Sci.* 2006;68:353-9.
- Oneta CM, Dufour JF. Diagnostik, Prognose und therapeutische Möglichkeiten der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung. *Schweiz Med Forum.* 2003;37:862-7.
- Otsu K, Ikeda Y, Fuji J. Accumulation of manganese superoxide dismutase under metal-depleted conditions: proposed role for zinc ions in cellular redox balance. *Biochem J.* 2004;377:241-8.
- Otto T. Uro-Onkologie – Update 2009. *Der Urologe.* 2009;48:1056-8.
- Ousey JC. Periparturient Endocrinology in the mare and fetus. *Reprod Dom Anim.* 2004a;39:222-31.
- Ousey JC. Production of 5-alpha-dihydroprogesterone during late pregnancy in the mare. *J Reprod Fert Suppl.* 2004b;44:529-535.
- Ousey JC, Fowden AL. Prostaglandins and the regulation of parturition in mares. *Equine Vet J Suppl.* 2012;41:140-8.
- Pagan JD, Hintz HF. Composition of milk from pony mares fed various levels of digestible energy. *Cornell Vet.* 1986;76:139-48.
- Parker TS, Levine DM, Chang JC, Laxer J, Coffin CC, Rubin AL. Reconstituted high density lipoprotein neutralizes gramnegative bacterial lipopolysaccharides in human whole blood. *Infect Immun.* 1995;63:253-8.
- Patan-Zugaj B, Gauff FC, Licka TF. Effects of the addition of endotoxin during perfusion of isolated forelimbs of equine cadavers. *Am J Vet Res.* 2012;73(9):1462-8.
- Paterson RL, Webster NR. Sepsis and the systemic inflammatory response syndrome. *J R Coll Surg Edinb.* 2000;45:178-82.
- Pferdezuchtverband Sachsen-Thüringen e. V. Zuchtverbandsordnung vom 08.05.2010. B.V.23 Zuchtprogramm für die Rasse des Shetland Ponys. § 523a Zuchtziel, einschließlich der Rassemerkmale. 2014:1-17.
- Perry IJ, Wannamethee SG, Shaper AG. Prospective study of serum gamma-glutamyltransferase and risk of NIDDM. *Diabetes Care.* 1998;21(5):732-7.
- Petzold M. Leukozytäre alkalische Phosphatase – Referenzwerte und klinische Bezüge bei Rindern. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2001.
- Pevec T. Dexamethason-21-isonicotinat als Begleittherapie bei Kühen mit Systemic Inflammatory Response Syndrome. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2007.

- Piero JR, Campbell RC, Santana AE, Valadão CAA. Klinische und labordiagnostische Beurteilung von Pferden nach intraperitonealer Injektion von Lipopolysacchariden (LPS). *J Equine Vet Science*. 1999;19:185-9.
- Pleasant RS, Suagee JK, Thatcher CD, Elvinger F, Geor RJ. Adiposity, plasma insulin, leptin, lipids, and oxidative stress in mature light breed horses. *J Vet Intern Med*. 2013;27(3):576-82.
- Poelstra K, Bakker WW, Klok PA, Hardonk MJ, Meijer DKF. A physiologic function for alkaline phosphatase: Endotoxin detoxification. *Lab Invest*. 1997;76:319-25.
- Polikepahad S, Haque M, Francis J, Moore RM, Venugopal CS. Characterization of endothelin receptors in the peripheral lung tissues of horses unaffected and affected with recurrent airway obstruction. *Can J Vet Res*. 2008;72:340-9.
- Popov IN, Lewin G. Photochemiluminescent detection of antiradical activity. II. Testing of nonenzymatic water-soluble antioxidants. *Free Radic Biol Med*. 1994;17:267-71.
- Popov IN, Lewin G. Photochemiluminescent detection of antiradical activity. IV. Testing of lipid-soluble antioxidants. *J Biochem Biophys Methods*. 1996;31:1-8.
- Pösö AR, Viljanen-Tarifa E, Soveri T, Oksanen HE. Exercise-induced transient hyperlipidemia in the racehorse. *J Vet Med A*. 1989;36:603-11.
- Ralston SL, Baile CA. Factors in the control of feed intake of horses and ponies. *Neurosci Biobehav Rev*. 1983;7:465-70.
- Randow F, Syrbe U, Meisel C, Krausch D, Zuckerman H. Mechanism of endotoxin sensitization. *J Exp Med*. 1995;181:1887-92.
- Ranjithkumar M, Malik TA, Saxena A, Dan A, Sakthivel PC, Dey S. Hyperlipidaemia in trypanosomiasis of naturally infected horses: possible cachexia-anorexia syndrome? *Trop Anim Health Prod*. 2013;45(2):417-21.
- Rasmussen H, Zawulich KC, Ganesan S, Calle R, Zawulich WS. Physiology and pathophysiology of insulin secretion. *Diabetes Care*. 1990;13:655-66.
- Rebar A, Metzger F. Lebererkrankungen im Spiegel von Laborbefunden. *Kleintiermed*. 1999;3:103-8.
- Reichelt U, Hamann J, Grabner A. das Equine Metabolische Syndrom: Diagnostik und Fallbeispiele. *Prakt Tierarzt*. 2009;90:548-54.
- Reinprecht B, Hackl S, Reisinger R, Zickl M, Spona J, Stanek C, Zentek J. Metabolic and clinical traits in horses undergoing feed deprivation for elective orthopedic surgery. *Berl Munch Tierarztl Wschr*. 2007;120:134-40.
- Rey AI, Segura J, Arandilla E, López-Bote CJ. Short- and long term effect of oral administration of micellized natural vitamin E (D- $\alpha$ -tocopherol) on oxidative status in race horses under intense training. *J Anim Sci*. 2013;91(3):1277-84.
- Riebandt N. Stimulierbarkeit der Hormonsensitiven Lipase bei Großpferd und Pony im Hinblick auf das Hyperlipämie-Syndrom [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 2005.

- Rink NJ. Messungen von Endothelfunktion und oxidativem Stress zur Beurteilung des Arterioskleroserisikos bei Kindern mit chronischer Niereninsuffizienz und bei Kindern mit korrigierten Herzfehlern [Dissertation med.]. Hamburg: Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf; 2005.
- Rooney JR, Bryans JT, Doll ER. Colitis "X" of horses. JAVMA. 1963;142:510-1.
- Rose RJ, Ilkiw JE, Arnold KS, Backhouse JW, Sampson D. Plasma biochemistry in the horse during 3-day event competition. Equine Vet J. 1980;12(3):132-6.
- Roth E, Manhart N, Punz A. Antioxidative Abwehrmechanismen während systemischer Inflammation, Pathophysiologie und therapeutische Interventionsmöglichkeiten. Intensivmed. 1998; 35: 95-105.
- Sallmann HP, Dühlmeier R, Wrage S, Deegen E. Hyperlipämiesyndrom beim Shetland-Pony. Vet-MedReport. 2002;2:5.
- Sattler T, Fürll M. Creatine kinase and aspartate aminotransferase in cows as indicators for endometritis. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med. 2004;51:132-7.
- Satué K, Muñoz A, Blanco O. Pregnancy influences the haematological profile of Carthusian broodmares. Pol J Vet Sci. 2010;13(2):393-4.
- Schmidt F. Auswirkungen definierter Hungerperioden auf Stoffwechselreaktionen bei Pony und Pferd nach Glucosebelastung [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 1994.
- Schnermann J. Effekte der oralen Verabreichung glukose- oder elektrolythaltiger Lösungen nach einer standardisierten Belastung auf die Thermoregulation und die Elektrolythomöostase bei Pferden [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 2000.
- Scholtz EL, Krishnan S, Ball BA, Corbin CJ, Moeller BC, Stanley SD, McDowell KJ, Hughes AL, McDonnell DP, Conley AJ. Pregnancy without progesterone in horses defines a second endogenous biopotent progesterone receptor agonist, 5 $\alpha$ -dihydroprogesterone. Proc Natl Acad Sci USA. 2014;111(9):3365-70.
- Schusser GF. Septikämie beim Fohlen. JVIM 2002, 464-471, Vet-MedReport Sonderausgabe V9 Blackwell Verlag Berlin. 2004;28:3.
- Schusser GF, Kyaw WO, Börner H, Hörügel U, Uhlig A. Equine Infektiöse Anämie: Klinik, labormedizinische Daten, Übertragungsmöglichkeiten. In: Aschenbach JR, Gäbel G, Daugschies A (Hrsg.): LBH: Proceedings 4. Leipziger Tierärztekongress. 2008;62-5.
- Schütt H. Bestimmung der antioxidativen Kapazität in Tee, Wein und Saft mittels Trolox-Test-Methode und Diskussion. In der Praktikumsmethodensammlung des Instituts für Biochemie und Lebensmittelchemie der Universität Hamburg, SOP-Nr: 1999.15. 1999.
- Searle SR. Linear model for unbalanced data. Wiley New York. 1987.
- Seidel H, Pufe M, Müller I, Grün E, Kolb E, Schuhmacher U. Verlaufsuntersuchungen zum Verhalten einiger biochemischer und physiologischer Parameter im geburtsnahen Zeitraum der Milchkuh. Arch Exper Vet Med. 1973;27:590-600.
- Senior JM, Proudman CJ, Leuwer M, Carter SD. Plasma endotoxin in horses presented to an equine referral hospital: correlation to selected clinical parameters and outcomes. Equine Vet J. 2011;43(5):585-91.



- Serteyn D, Sandersen C, Lejeune JP, de la Rebière de Pouyade G, Ceusters J, Mouithys-Mickalad A, Niesten A, Fraipont A, van Erck E, Goachet AG, Robert C, Leclerc JL, Votion DM, Franck T. Effect of a 120 km endurance race on plasma and muscular neutrophil elastase and myeloperoxidase concentrations in horses. *Equine Vet J Suppl.* 2010;38:275-9.
- Shetland Pony Stud-Book Society. Shetland House, 22 York Place, Perth, PH2 8EH, Scotland. [www.shetlandponystudbookociety.co.uk](http://www.shetlandponystudbookociety.co.uk). 2014.
- Sies H. Biochemie des oxidativen Stress. *Angew Chem.* 1986;98:1061-75.
- Silver M. Placental progestagens in the sheep and horse and the changes leading to parturition. *Exp Clin Endocrinol.* 1994;102(3):203-11.
- Singh V. Funktionelle Charakterisierung von Somatostatinrezeptoren der Insulin- und Glukagon-produzierenden Pankreaszellen und deren Bedeutung für die Regulation der Glukosehomöostase [Dissertation med.]. Berlin: Freie Universität Berlin; 2008.
- Sobiraj A, Warko G, Lehmann B, Bostedt H. Das Lebensschwachesyndrom (LSS) bei neugeborenen Fohlen. Retrospektive Untersuchungen zu dessen ätiologischer Abklärung sowie zu den Heilungsaussichten. *Tierarztl Prax.* 1992;20:287-91.
- Spearman C. The proof and measurement of association between two things. *Amer J Psychol* 1904;15: 72-101.
- Steel RGD, Torrie JH. Principals and Procedures of Statistics. 2<sup>nd</sup> ed. McGraw-Hill Inc., International Edition. 1980.
- Stehle J. Der kolloidosmotische Druck von Blutplasma und Plasmaersatzmitteln unter Aspekten der Innenohrtherapie. Kritische Betrachtungen hierzu sowie zu Messtechnik und Störfaktoren [Dissertation med.]. Würzburg: Julius-Maximilians-Universität Würzburg; 2001.
- Stewart AJ. Magnesium disorders in horses. *Vet Clin Nord Am Equine Pract.* 2011;27(1):149-63.
- Sting R. Detection of beta2 and major toxin genes by PCR in *Clostridium perfringens* field isolates of domestic animals suffering from enteritis or endotoxaemia. *Berl Munch Tierarztl Wschr.* 2009;122:341-7.
- Straub R, Frey J. Neue Erkenntnisse zur Aethiopathogenese der Typhlocolitis beim Pferd. Fortbildungstage Berlin. PHK. 2000;16:436-7.
- Tadros EM, Frank N, Newkirk KM, Donnell RL, Horohov DW. Effects of a „two hit“ model of organ damage on the systemic inflammatory response and development of laminitis in horses. *Vet Immunol Immunopathol.* 2012;150(1-2):90-100.
- Taylor PM. Effects of surgery on endocrine and metabolic responses to anaesthesia in horses and ponies. *Res Vet Sci.* 1998;64(2):133-40.
- Thein P, Eßich G, Röhm A. Fohlenerkrankungen und Fohlenverluste – ein Beitrag zur Ursache von Aborten im Zeitraum von 1972 bis 2002 im Haupt- und Landgestüt Marbach an der Laufer. *Tierarztl Umschau.* 2005;60:115-27.

- Thomas L. Pathobiochemie und klinisch-chemische Diagnostik der Stoffwechselerkrankungen. In: Thomas L (Hrsg.): Labor und Diagnose, Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 5. Auflage, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH Frankfurt/ Main. 2000:56-668.
- Thorne PS, Perry SS, Saito R, O'Shaughnessy PT, Mehaffy J, Metwali N, Keefe T, Donham KJ, Reynolds SJ. Evaluation of the Limulus Amebocyte Lysate and Recombinant Factor C Assays for Assessment of Airborne Endotoxin. *ASM J.* 2010;76:4988-95.
- Timm K. Diagnostische Bedeutung der alkalischen Phosphatase und ihrer Isoenzyme im Blutserum von Kühen. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2008.
- Treiber KH, Kronfeld DS, Geor RJ. Insulin resistance in equids: possible role in laminitis. *J Nutr.* 2006;136(7):2094-8.
- Treiber K, Carter R, Gay L, Williams C, Geor R. Inflammatory and redox status of ponies with a history of pasture-associated laminitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2009;129(3-4):216-20.
- Trudewind M. Autonomes Nervensystem und Immunabwehr: Bedeutung der noradrenergen Innervation für die Migration von Splenozyten in die Milz [Dissertation med.]. Marburg: Philipps-Universität Marburg; 2004.
- Tschudi P. Labordiagnostik bei Lebererkrankungen. *Prakt Tierarzt.* 1984;65:115-8.
- Tsi C J, Chao Y, Chen CW, Lin WW. Aurintricarboxylic acid protects against cell death caused by lipopolysaccharide in macrophages by decreasing inducible nitric-oxide synthase induction via IkappaB kinase, extracellular signal-regulated kinase, and p38 mitogen-activated protein kinase inhibition. *Mol Pharmacol Jul.* 2002;62:90-101.
- Twining SS, Schulte DP, Wilson PM, Fish BL, Moulder JE. Vitamin A deficiency alters rat neutrophil function. *J Nutr.* 1997;127:558-65.
- Ujeyl A. Die Wirkung der in vivo Supplementation von Vitamin E und Vitamin C auf den Oxidationsstoffwechsel bei Alzheimerpatienten [Dissertation med.]. Hamburg: Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf; 2002.
- Underwood C, Southwood LL, Walton RM, Johnson AL. Hepatic and metabolic changes in surgical colic patients: a pilot study. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2010;20(6):578-86.
- Ungru J, Blüher M, Coenen M, Raila J, Boston R, Vervuert I. Effects of body weight reduction on blood adipokines and subcutaneous adipose tissue adipokine mRNA expression profiles in obese ponies. *Vet Rec.* 2012;171:528.
- Urban D, Mayerl J. Regressionsanalyse: Theorie, Technik und Anwendung. Wiesbaden VS Verlag. 2006.
- Valk N, Doherty TJ, Blackford JT, Abraha TW, Frazier DL. Phenylbutazon schützt beim Pferd vor endotoxin-induzierter Verzögerung der Magenentleerung. *Can J Vet Res.* 1998;62:214-7.
- Valle E, Storace D, Sanguineti R, Carter R, Odetti P, Geor R, Bergero D. Association of the glycoxidative stress marker pentosidine with equine laminitis. *Equine Vet J.* 2013;196:445-50.
- Van Weyenberg S, Hesta M, Buyse J, Janssens GP. The effect of weight loss by energy restriction on metabolic profile and glucose tolerance in ponies. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2008;92(5):538-45.

- Vervuert I. Ausgewählte nutritiv bedingte Probleme beim Pferd – Teil 1: Zusammenhang zwischen Fütterung und Atemwegserkrankungen, Auswirkungen der Adipositas und Bedeutung von Fruktanen. Tierarztl Praxis G. 2009;36:131-9.
- Vick MM, Adams AA, Murphy BA, Sessions DR, Horohov DW. Relationship between inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. J. Anim Sci. 2007;85:1144-55.
- Vivrette S. The endocrinology of parturition in the mare. Vet Clin North Am Equine Pract. 1994;10:1-17.
- Volbracht J. Beziehung zwischen klinisch-chemischen Labormessgrößen und pathohistomorphologischen Befunden der Leber bei der Katze [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 2004.
- Volk HD, Thieme M, Ruppe U, Heym S, Göcke WD. Alterations in function and phenotype of monocytes from patients with septic disease. In: Faist E, Meakins J, Schildberg FW (Hrsg.): Host defense dysfunction in trauma, shock and sepsis. Springer Verlag Berlin; 1999.
- Von Rauchhaupt A. Untersuchungen über den Mengen- und Spurenelementstatus bei Mutterstuten in differenten Reproduktionsstadien und deren Fohlen unter besonderer Berücksichtigung der Gliedmaßenfehlstellungen bei Jungtieren bis zum sechsten Lebensmonat [Dissertation med. vet.]. Gießen: Justus-Liebig-Universität Gießen; 2006.
- Wagner BA, Buettner GR, Burns CP. Vitamin E slows the rate of free radical-mediated lipid peroxidation in cells. Arch Biochem Biophys. 1996;334:261-7.
- Waite LH, Cebra CK. Characterization of hypertriglyceridemia and response to treatment with insulin in horses, ponies and donkeys: 44 cases (1995-2005). J Am Vet Med Assoc. 2009;234(7):915-9.
- Walsh BW, Schiff I, Rosner B, Greenberg L, Ravnkar V, Sacks FM. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. N Engl J Med. 1991;325(17):1196-204.
- Watson TGD. Lipoprotein metabolism in the horse. Ph. D. Thesis. University of Glasgow. 1991.
- Watson TGD, Love S. Equine hyperlipidemia. Comp Cont Educ Pract Vet. 1994;16:89-98.
- Watson TGD, Burns L, Packard CJ, Shepherd J. Establishing the metabolic basis of equine hyperlipidaemia. Atherosclerosis. 1990;85:94.
- Watson TGD, Burns L, Love S, Packard CJ, Shepherd J. The isolation, characterization and quantification of the equine plasma lipoproteins [see comments]. Equine Vet J. 1991;23:353-9.
- Watson TGD, Burns L, Love S, Packard CJ, Shepherd J. Plasma lipids, lipoproteins and post-heparin lipases in ponies with hyperlipaemia. Equine Vet J. 1992;24(6):341-6.
- Watson TGD, Burns L, Freeman DJ, Packard CJ, Shepherd J. High density lipoprotein metabolism in the horse [Equus caballus]. Comp Biochem Physiol B. 1993a;104:45-53.
- Watson TGD, Burns L, Packard CJ, Shepherd J. Effects of pregnancy and lactation on plasma lipid and lipoprotein concentrations, lipoprotein composition and post-heparin lipase activities in Shetland pony mares. J Reprod Fertil. 1993b;97:563-8.

- Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Locke S. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS Lett.* 1985;187:33-7.
- Weber M. Co-Enzym Q10: Die Erfolgsgeschichte eines Vitalstoffes. BoD Verlag. 2009:61-4.
- Weiss DJ, Evanson OA, McClenahan D, Fagliari JJ, Dunnwiddie CT, Wells RE. Effect of a competitive inhibitor of platelet aggregation an experimentally induced laminitis in ponies. *Am J Vet Res.* 1998;59:814-7.
- Wensing T, van Gent DM, Schotman AJ, Kroneman J. Hyperlipoproteinaemia in ponies: mechanisms and response to therapy. *Clin Chem Acta.* 1975;58:1-15.
- Westermann CM, Dorland B, de Sain-van-der Velden MG, Wijnberg ID, Van Breda E, De Graaf-Roelfsema E, Keizer HA, Van der Kolk JH. Plasma acylcarnitine and fatty acid profiles during exercise and training in Standardbreds. *Am J Vet Res.* 2008;69(11):469-75.
- Weyenberg SV, Hesta M, Buyse J, Papadopoulos GA, Janssens GP. Short-term effects of energy changes on plasma leptin concentrations and glucose tolerance in healthy ponies. *Vet J.* 2008;178:233-7.
- White A, Estrada M, Walker K, Wisnia P, Filgueira G, Valdés F, Araneda O, Behn C, Martinez R. Role of exercise and ascorbate on plasma antioxidant capacity in thoroughbred race horses. *Comp Biochem Phys.* 2001;128:99-104.
- Wiesenhütter C. Shetlandponys. In: Schwark HJ, Strittmatter K, Pingel H (Hrsg.): Tierzucht in der DDR und in den neuen Bundesländern. DGfZ-Schriftenreihe. Sonderheft 2. 2008:163-72.
- Williams CA, Burk AO. Antioxidant status in elite three-day event horses during competition. *Oxid Med Cell Longev.* 2012.
- Williams CA, Carlucci SA. Oral vitamin E supplementation on oxidative stress, vitamin and antioxidant status in intensely exercised horses. *Equine Vet J Suppl.* 2006;36:617-21.
- Williams CA, Kronfeldt DS, Hess TM, Saker KE, Waldron JN, Crandell KM, Hoffmann RM, Harris PA. Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. *J Anim Sci.* 2004;82(2):588-94.
- Winkelsett S, Vervuert I. Tierschutzaspekte bei der Prophylaxe und Therapie der Hufrehe. *Dtsch Tierarztl Wschr.* 2008;115:106-13.
- Winnefeld K. Antioxidantien und Radikale: Analytik und klinische Bedeutung. *J Lab Med.* 1996;20:199-204.
- Winter NA. Untersuchung des antioxidativen Status des Pferdes bei unterschiedlichen Fütterungsprotokollen sowie Prüfungen zur Stabilität Antioxidativer Parameter in Blutproben [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2009.
- Wollanke B, Gerhards H. Klinik und makroskopische Pathomorphologie der akuten Typhlocolitis. *Prakt Tierarzt.* 2006;87:32-7.

- Wrage S. Beta-adrenerge Rezeptoren im equinen Fettgewebe und ihre Bedeutung im Hinblick auf das Hyperlipämie-Syndrom des Ponys [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover; 2002.
- Wray H, Elliott J, Bailey SR, Harris PA, Menzies-Gow NJ. Plasma concentrations of inflammatory markers in previously laminitic ponies. *Equine Vet J.* 2013;45(5):546-51.
- Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison KC. CD14, a receptor for complex liposaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science.* 1990;249:1431-3.
- Wurm S. Verhalten und körperliche Beanspruchung von Pferden auf dem Laufband im Wasser [Dissertation med. vet.]. Gießen: Justus-Liebig-Universität Gießen; 2004.
- Zeyner A, Röpke M, Schindler A, Bessert J, Dittrich A, Gropp J, Krüger M. Untersuchungen zur Fütterungsabhängigkeit der Konzentration an freiem Endotoxin in Kotwasser und Blutserum von Pferden. *Proc Soc Nutr Physiol.* 1997;6:64.
- Zhang YH, Baek L, Bertelsen T, Koch L. Quantification of the endotoxin-neutralizing capacity of serum and plasma. *APMIS.* 1995;103:721-30.
- Zickler D. Einfluss von C-reaktiven Protein und Pentraxin 3 auf die Kalzifizierung glatter Muskelzellen und Zytokinproduktion von Monozyten im Prozess der Arteriosklerose [Dissertation med.]. Berlin: Charité Humboldt-Universität Berlin; 2010.

## 9 ANHANG

### 9.1 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Schematische Darstellung des physiologischen Endotoxin-Metabolismus (FÜRLL et al. 1998)	25
<b>Abbildung 2:</b> ABTS-Molekül .....	46
<b>Abbildung 3:</b> Trolox-Molekül.....	47
<b>Abbildung 4:</b> Triacylglycerole (mmol/l; Median, I./III. Quartil) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. Säulen mit gleichen Buchstaben sind nicht signifikant unterschiedlich. Gelb gekennzeichnete Referenzbereich .....	51
<b>Abbildung 5:</b> Cholesterol (mmol/l; $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	53
<b>Abbildung 6:</b> Freie Fettsäuren ( $\mu\text{mol/l}$ ; Median, I./III. Quartil) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.....	55
<b>Abbildung 7:</b> $\beta$ -Hydroxy-Butyrat (mmol/l; $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	56
<b>Abbildung 8:</b> Gesamtbilirubin ( $\mu\text{mol/l}$ ; $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	57
<b>Abbildung 9:</b> Aspartat-Amino-Transferase (U/l; $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	59
<b>Abbildung 10:</b> Glutamat-Dehydrogenase (U/l; Median, I./III. Quartil) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	60
<b>Abbildung 11:</b> $\gamma$ -Glutaminsäure-Transaminase (U/l; Median, I./III. Quartil) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	61
<b>Abbildung 12:</b> Glucose (mmol/l; $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	63
<b>Abbildung 13:</b> Alkalische Phosphatase (U/l; $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	64
<b>Abbildung 14:</b> Totalprotein (g/l; $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	66
<b>Abbildung 15:</b> Albumin (g/l; $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	67
<b>Abbildung 16:</b> Harnstoff (mmol/l; $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	69
<b>Abbildung 17:</b> Creatinin ( $\mu\text{mol/l}$ ; $\bar{x} \pm s$ ) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum. ....	70

<b>Abbildung 18:</b> <i>Creatinkinase (U/l; Median, I./III. Quartil) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.</i> .....	72
<b>Abbildung 19:</b> <i>Leukozytenzahlen (G/l; <math>\bar{x} \pm s</math>) von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.</i> .....	73
<b>Abbildung 20:</b> <i>Endotoxine (EU/ml; <math>\bar{x} \pm s</math>) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.</i> .....	74
<b>Abbildung 21:</b> <i>Trolox Equivalent Antioxidative Activity (mmol/l; <math>\bar{x} \pm s</math>) im Serum von 15 Shetlandpony-Stuten zu fünf verschiedenen Zeitpunkten während der Gravidität und post partum.</i> .....	75
<b>Abbildung 22:</b> <i>Arterielle Cortisolkonzentration im Plasma von chronisch katheterisierten fetalen Ponyföhlen, bezogen auf die Tage vor der Spontangeburt. <math>\bar{x} \pm s</math> für <math>\geq 7</math> Föten (FOWDEN et al. 2008)</i> .....	79

## 9.2 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> <i>Plasmalipid- und Lipoproteincholesterol-Konzentrationen im Serum von Pferden und Ponys (WATSON et al. 1993b)</i> .....	5
<b>Tabelle 2:</b> <i>Beziehungen zwischen Ernährungszustand sowie ausgewählten klinisch-chemischen Parametern bei an Hyperlipidämie erkrankten Ponys (n = Anzahl) (FÜRLLE und SCHÄFER 1992a)</i> .....	6
<b>Tabelle 3:</b> <i>Ursachen für Änderungen der Gesamtleukozytenzahl (nach KROSCINSKY et al. 2007 und JOLKMANN 2005)</i> .....	20
<b>Tabelle 4:</b> <i>Reaktive Sauerstoffspezies, die Bedeutung für den oxidativen Stress haben (SIES 1986)</i> .....	33
<b>Tabelle 5:</b> <i>Endogene und exogene Faktoren, die oxidativen Stress verursachen (BEHL und HARTL 2007)</i> .	34
<b>Tabelle 6:</b> <i>Antioxidantien in biologischen Systemen (nach SIES 1986; HALLIWELL und GUTTERIDGE 1990)</i> .....	36
<b>Tabelle 7:</b> <i>Körpereigene Schutzsysteme sowie Antioxidantien gegen freie Radikale und oxidativen Stress im Blutplasma (MÜLLER et al. 2001)</i> .....	39
<b>Tabelle 8:</b> <i>Namen, Alter, Anzahl der Abfohlungen und BCS (nach KIENZLE und SCHRAMME 2004) der untersuchten Shetlandpony-Stuten</i> .....	42
<b>Tabelle 9:</b> <i>Analysierte klinisch-chemischen Parameter im Serum von Ponys, deren Bestimmungsmethoden und dafür verwendete Geräte sowie Referenzbereiche der Parameter (Medizinische Tierklinik Leipzig)</i> .....	44
<b>Tabelle 10:</b> <i>Signifikante Korrelationen der Triacylglycerole mit anderen Parametern</i> .....	52
<b>Tabelle 11:</b> <i>Signifikante Korrelationen des Cholesterols mit anderen Parametern</i> .....	54
<b>Tabelle 12:</b> <i>Signifikante Korrelationen der Freien Fettsäuren mit anderen Parametern</i> .....	55
<b>Tabelle 13:</b> <i>Signifikante Korrelationen des <math>\beta</math>-Hydroxy-Butyrats mit anderen Parametern</i> .....	56
<b>Tabelle 14:</b> <i>Signifikante Korrelationen des Gesamtbilirubins mit anderen Parametern</i> .....	58
<b>Tabelle 15:</b> <i>Signifikante Korrelationen der Aspartat-Amino-Transferase mit anderen Parametern</i> .....	59
<b>Tabelle 16:</b> <i>Signifikante Korrelationen der Glutamat-Dehydrogenase mit anderen Parametern</i> .....	61
<b>Tabelle 17:</b> <i>Signifikante Korrelationen der <math>\gamma</math>-Glutaminsäure-Transaminase mit anderen Parametern</i> .....	62
<b>Tabelle 18:</b> <i>Signifikante Korrelationen der Glucose mit anderen Parametern</i> .....	63
<b>Tabelle 19:</b> <i>Signifikante Korrelationen der Alkalischen Phosphatase mit anderen Parametern</i> .....	65
<b>Tabelle 20:</b> <i>Signifikante Korrelationen des Totalproteins mit anderen Parametern</i> .....	66
<b>Tabelle 21:</b> <i>Signifikante Korrelationen des Albumins mit anderen Parametern</i> .....	68
<b>Tabelle 22:</b> <i>Signifikante Korrelationen des Harnstoffs mit anderen Parametern</i> .....	69
<b>Tabelle 23:</b> <i>Signifikante Korrelationen des Creatinins mit anderen Parametern</i> .....	71
<b>Tabelle 24:</b> <i>Signifikante Korrelationen der Creatinkinase mit anderen Parametern</i> .....	72
<b>Tabelle 25:</b> <i>Signifikante Korrelationen der Leukozyten mit anderen Parametern</i> .....	73
<b>Tabelle 26:</b> <i>Signifikante Korrelationen der Endotoxine mit anderen Parametern</i> .....	74
<b>Tabelle 27:</b> <i>Signifikante Korrelationen der TEAC mit anderen Parametern</i> .....	75



## DANKSAGUNG

Als Abschluss dieser Arbeit möchte ich mich bei allen, die mich bei der Anfertigung der Arbeit unterstützten, herzlichst bedanken.

Mein Dank gilt in erster Linie Herrn apl. Prof. Dr. habil. M. Fürll für die Überlassung dieses interessanten Themas und für die Unterstützung bei der Realisierung der Arbeit. Die angenehme und freundliche Atmosphäre wird mir ebenso in dankbarer Erinnerung bleiben, wie die Möglichkeit, zu jeder Zeit meine Angelegenheiten vorzubringen und Lösungsansätze diskutieren zu können.

Mein Dank gilt ebenfalls Frau Dipl.-Chem. H. Kirbach und allen Mitarbeiterinnen des Labors der Medizinischen Tierklinik der Universität Leipzig für die freundliche Aufnahme in das Team, die mich bei der Probenaufbereitung und Messung der Stoffwechselfparameter unterstützt haben.

Voraussetzung für diese Arbeit waren die Shetlandpony-Stuten des Züchters Herrn Erwin Schötz aus Waltersdorf, der mich mit aller Kraft bei der Probensammlung unterstützte. Vielen Dank!

Herrn Dr. Matthias Huth und seiner Frau Dr. Elke Huth danke ich herzlich für die freundliche Unterstützung bei der Erstellung der statistischen Auswertung und für die Hilfe bei computertechnischen Problemen. Matthias und Elke fixierten mich nächtelang an den Laptop und zwangen mich mit frischem Joghurt und anderen Argumenten, bei der Überarbeitung des Manuskripts durchzuhalten. Danke für Eure geduldige und unermüdliche Hilfe! Der Mann mit dem größten Durchhaltevermögen ist Benjamin Paul, der ohne Murren nach jeder Änderung (davon gab es unendlich viele) die Arbeit neu formatierte und immer wieder Formfehler aufspürte. Genial!

Ohne die vielen moralischen Tritte und Beistand meiner lieben Kolleginnen und Kollegen Dr. Doreen Scharner, Kerstin Hoffmann, Dr. Sabine Ae, Peter Hantusch, sowie meiner Freunde Jojo, Sabine, Doro, Melli, Evi, Marlen, Romy, Lippi, Manja, Gerald, Anne, und und und... hätte ich diese Arbeit neben der Tätigkeit in meiner Praxis mangels Durchhaltevermögen nie geschafft.

Abschließend möchte ich meiner Tochter Nora und meiner Mutter Christine für die unermüdliche Unterstützung sowie für die Schaffung von zeitlichen Freiräumen danken, sie machten alle Mühe wert.

Danke, dass es Euch alle gibt!!!